

**RHEOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN
VON ERYTHROZYTENAGGLUTINATEN**

Conrad Pfafferott

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555625_0009

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. K. Kramer

RHEOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN
VON ERYTHROZYTENAGGLUTINATEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Conrad Pfefferott

aus
Ingolstadt

Jahr

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Schmid-Schönbein
Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Kramer
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 1. 12. 1977



Herrn Prof. Dr. K. Kramer danke ich, daß ich an seinem Institut arbeiten durfte.

Herrn Prof. Dr. H. Schmid-Schönbein danke ich sehr für die Überlassung des Themas und seine Hilfsbereitschaft bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Ferner gilt mein Dank Frau H. Heidtmann und den Herren H. Malotta, Dr. G. Driessen und F.J. Kaiser für ihre großzügige Unterstützung, sowie Frau H. Hagn für die Schreibarbeiten.

Für Astrid

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1	Einleitung	1
2	Ergebnisse der Blutgruppenforschung	5
2.1.	Antigeneigenschaften der Erythrozyten	5
2.2.	Isoantikörper im Blut	7
3	Methodik	10
3.1.	Verwendete Rheoskope	10
3.1.1.	Aggregometer nach Klose	10
3.1.2.	Abgewandelte Ausführung des Aggregometers: sog. Minirheoskop	15
3.1.3.	Gegenrotatorisches Rheoskop zur filmischen Dokumentation	15
3.2.	Viskosimeter nach Wells-Brookfield	19
3.3.	Aufbereitung der Blutproben	21
3.4.	Bestimmung des Antikörpertiters	22
4	Ergebnisse	23
4.1.	Agglutination von Erythrozyten in Plasma und Serum	23
4.1.1.	Agglutination und Dispersion von Erythrozyten bei schneller Strömung ($\dot{\gamma}_{\text{Tmin}}$)	23

	Seite
4.1.2. Agglutinationsverhalten von Erythrozyten bei langsamer Strömung (FSAR)	26
4.1.3. Agglutinationsverhalten von Erythrozyten in Stase ($t/2$)	29
4.1.4. Einfluß der Vorbehandlung von Erythrozyten auf die Agglutination	33
4.1.5. Auswirkung der Plasmaverdünnung auf die Agglutination	35
4.2. Viskometrisches Verhalten der Agglutinate	37
4.3. Auswertung der photographisch festgehaltenen Befunde	41
5 Diskussion	50
6 Zusammenfassung	69
7 Literaturverzeichnis	72

1. Einleitung

Im Jahre 1875 entdeckte LANDOIS bei Versuchen mit tierischem Blut das Auftreten von Erythrozytenklumpen, "Agglutinat", als er das Serum und die roten Blutkörperchen verschiedener Tiergattungen miteinander vermischte. Da ähnliche Klumpenbildungen bereits bekannt waren, vermutete er bei dieser gleichartigen Erscheinung ebenfalls eine Antigen-Antikörperreaktion (43).

25 Jahre später beobachtete LANDSTEINER zum ersten Mal dieselben Phänomene der Agglutination bei Arbeiten mit menschlichem Blut. Mit der Entdeckung der Blutgruppen A, B und O nahm die Blutgruppenkunde ihren Anfang. Jahrzehntlang gab es keine allgemeingültige Terminologie für die verschiedenen Erscheinungsformen der Zusammenlagerung von Erythrozyten. Die Begriffe Aggregation und Agglutination wurden von den verschiedenen Autoren, aber auch von ein und demselben Autor (z.B. KNISELY) als Synonyma verwendet.

UHLENBRUCK (61) begrenzt mit seiner Definition den Begriff Agglutination: "Unter Agglutination versteht man die Zusammenballung oder Klumpung von Zellen oder kleinen Partikeln aufgrund einer Antigen-Antikörperreaktion. Daher ist die Agglutination immer ein immunbiologischer Vorgang, an dem sich ein Antigen - oder auch Rezeptor - beteiligt, sowie ein Agglutinin."

Wenn man Agglutinate im Mikroskop betrachtet, mag der Gedanke auftauchen, wie sich diese großen Klumpen wohl im Blutkreislauf des Menschen verhalten mögen, vor allem in den Kapillaren, deren Durchmesser sie bei weitem übertreffen. Aus dem Bereich der Pathologie ist eine gesteigerte Erythrozytenaggregation bekannt, die zu einer enormen Erhöhung des Strömungswiderstandes in der Mikrozirkulation führt. KNISELY (33) hat hierfür den Begriff "sludged blood" eingeführt.

Bekanntlich gehört das Blut zur Gruppe der "nicht-Newtonschen" Flüssigkeiten. In ihr faßt man solche Flüssigkeiten zusammen, deren Viskosität außer von der Temperatur und dem herrschenden Druck auch von der Schubspannung oder dem Schergrad abhängt. Es gibt für das Blut keine Viskositätskonstante, man mißt immer nur "scheinbare" Viskositäten in Abhängigkeit von den herrschenden Schubspannungen.

Beim Fluß durch das Gefäßsystem mit seiner unterschiedlichen Geometrie ist nun das Blut ständig wechselnden Kräften ausgesetzt. Zur Aufrechterhaltung der Zirkulation ist es erforderlich, daß sich die Einzelzellen des Blutes, d.h. im wesentlichen die Erythrozyten, den jeweiligen Fließbedingungen anpassen. Hierzu sind die roten Blutkörperchen vorzüglich ausgebildet. Bei langsamer Strömung, wenn also nur geringe Kräfte auf sie einwirken, lagern sich die Erythrozyten zu Geldrollen,

den Rouleaux, zusammen, die Blutviskosität steigt an, um bei schneller Strömung zu dispergieren, und sich durch Verformung in Ellipsoide wie Flüssigkeitstropfen im Plasma zu verhalten, wobei die Viskosität sinkt (13, 47). Die Bewegung der Erythrozytenmembran um den Zellinhalt, die sog. "Panzerkettenrotation" (18, 46, 57), ist bei dieser Strömungsanpassung von wesentlicher Bedeutung. Es ist dem Blut also möglich, sein Fließverhalten in so weiten Grenzen zu verändern, daß es einerseits die Eigenschaft eines Festkörpers, andererseits die sehr niedrige Viskosität des Plasmas annehmen kann (52). Das gelingt jedoch nur, wenn die Strömungskräfte groß genug sind, um 1. die adhäsiven Kräfte zwischen den Zellen zu überwinden und 2. die Zellen zu verformen. Die adhäsiven Kräfte können durch Veränderungen der plasmatischen Eigenschaften gesteigert sein, wie man sie z.B. bei erhöhter Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit findet (2, 5).

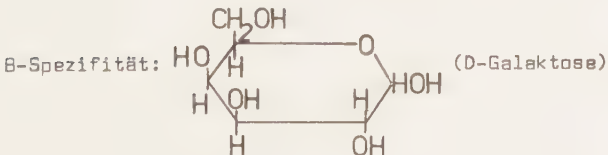
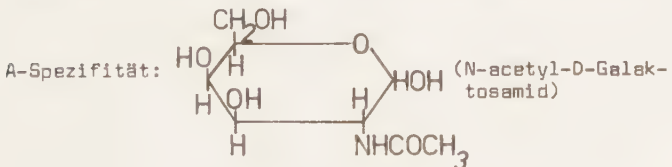
FAHRAEUS berichtete über die starke Aggregationsfähigkeit des Fibrinogens (17). Andere Autoren fanden, daß auch Globuline einen Einfluß auf die Aggregation haben (2, 44). GALLASCH beschreibt das Auftreten von Erythrozytenklumpen bei Anwesenheit von α_2 -Makroglobulinen und von Rouleauxnetzen bei Zugabe von IgM-Globulinen zu Erythrozytensuspensionen (20). Auch Dextrane verschiedener Molekülgröße (4, 24, 59, 62, 63) und Polylysin (30) führen zur Zusammenballung von Erythrozyten.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die durch Isoantikörper ausgelöste Agglutination in viskosimetrischer Strömung zu beobachten. Die gefundenen Ergebnisse sollten mit jenen verglichen werden, die sich bei der Untersuchung von Aggregaten fanden, die durch Plasmaproteine hervorgerufen wurden. Ähnlichkeiten oder Unterschiede waren aufzuzeigen.

2 Ergebnisse der Blutgruppenforschung

2.1. Antigeneigenschaften der Erythrozyten

Die durchzuführenden Versuche beschränkten sich auf die Antigene und die Antikörper der Blutgruppe A B O. Im ABO-System treten 4 Hauptgruppen auf, nämlich die Gruppen O, A, B, AB. Die Blutgruppeneigenschaften werden bekanntlich vererbt. Sie werden durch Mukoide hervorgerufen, die sich an der Zelloberfläche fast aller Zellen des menschlichen Körpers finden lassen. Diese Mukoide, die auch bei Bakterien vorkommen, besitzen antigene Eigenschaften, die verschieden stark ausgebildet sein können und dann zu Untergruppen führen, z.B. A_1 , A_2 , A_3 (56). Es gelang, verschiedene für die Blutgruppenantigene charakteristische Zucker zu finden. Die spezifischen Zucker für die Antigene A und B seien hier aufgeführt:



Die Antigenplätze des ABO-Systems liegen auf den Erythrozyten eng beieinander (3). ECONOMIDOU gibt ihre Zahl pro Zelle wie folgt an:

$$A_1 : 0.81 - 1.17 \times 10^6; \quad B : 0.75 \times 10^6;$$

$$A_1 B : (0.46 - 0.85 \times 10^6 A_1 + 0.43 \times 10^6 B);$$

$$A_2 : 0.24 - 0.29 \times 10^6 \text{ (15)}, \text{ d.h. die Zellen der Blutgruppe } A_1 \text{ weisen bedeutend mehr Bindungsstellen auf als die Erythrozyten der Blutgruppe B.}$$

Schon bei 5 oder 6 Wochen alten Embryos können auf den Erythrozyten A- oder B-Rezeptoren gefunden werden.

Sie sind aber bei der Geburt noch nicht voll entwickelt (31). Die volle Wirksamkeit der Antigene, d.h. eine Reaktion mit Antikörpern, die ebenso stark ist wie die Antigen-Antikörperreaktion der Erythrozyten Erwachsener, wird erst mit 2 - 4 Jahren erreicht (26).

2.2 Isoantikörper im Blut

Bis auf sehr seltene Ausnahmen (14) besitzt jeder Mensch natürliche Antikörper, die sog. Isoantikörper, die sich gegen die Antigenmerkmale des ABO-Systems richten, die nicht auf seinen Erythrozyten zu finden sind. So besitzt die Blutgruppe A im Plasma immer den Isoantikörper Anti B, die Blutgruppe B den Isoantikörper Anti A, die Blutgruppe O sowohl Anti A als auch Anti B und die Blutgruppe AB keine Antikörper. Die Bildung der Isoantikörper beginnt im wesentlichen erst nach der Geburt. Der Titer erreicht im Alter von 5 - 10 Jahren sein Maximum und fällt danach allmählich wieder ab. Schwere chronische Krankheiten können den Titer so stark senken, daß Antikörper kaum noch nachweisbar sind (56).

Die natürlich vorkommenden Isoantikörper Anti A und Anti B sind entweder ganz oder teilweise IgM (MG 900000), sie können jedoch auch den Immunglobulingruppen IgG (MG 160000) und IgA (MG 150000) entstammen (19, 34). Die verschiedenen Immunglobuline sind in ihrer Agglutinationsfähigkeit unterschiedlich stark. Um zum Beispiel in einer Suspension von A-Erythrozyten 50 % der Zellen zur Agglutination zu bringen, sind pro Zellen 25 IgM Anti-A Moleküle erforderlich, von IgG Anti A jedoch 20000 Moleküle pro Zelle (21).

Eine Erklärung ergibt sich unter anderem aus der Molekülstruktur der beiden Antikörper. Während das IgG Molekül 2 Antigen-Bindungsstellen besitzt, gibt es beim IgM Molekül wahrscheinlich 10 (35).

Man glaubt, daß sich das IgG Molekül, bedingt durch die enge räumliche Anordnung der Antigenplätze auf der Blutkörperchenoberfläche, mit beiden Bindungsstellen an ein und dieselbe rote Blutzelle binden kann (21, 22). In diesem Fall kann es keine Agglutination mehr hervorrufen. Das IgG Molekül wird darüber hinaus auch unspezifisch an die Erythrozytenoberfläche gebunden, ohne Antigenplätze zu besetzen. In Abhängigkeit von der IgG-Konzentration im Serum werden bis zu 1.6×10^3 Moleküle IgG pro rote Blutzelle adsorbiert (25, 40). Das IgM Molekül, welches als Pentamer vorliegt, kann sich dagegen höchstens mit 2 seiner 10 Bindungsstellen an einen Erythrozyten binden. Die unbesetzten Bindungsstellen stehen für die Agglutination voll zur Verfügung.

Kommt es zum Beispiel während einer Schwangerschaft oder durch eine unverträgliche Bluttransfusion zu Inkompatibilitätserscheinungen im ABO-System, treten qualitative und quantitative Veränderungen der Antikörper auf, vor allem wird verstärkt IgG gebildet.

Es gibt aber auch ein "Immun"-IgM (42) und ein IgA (38). Die Immunantikörper sind schwieriger mit Antigenen zu neutralisieren als die natürlichen Antikörper (16, 43). Am Beispiel der hämolysierenden Antikörper wurde gefunden, daß die Immunantikörper über Jahre persistieren (60).

Bei der Bestimmung des Antikörpertiters verschiedener Blutproben ist es wesentlich, stets gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen. Die Höhe des sog. Titers ist stark abhängig von der Temperatur, der Konzentration der Erythrozyten in der Testlösung, der Inkubationszeit und der Ablesetechnik. AUBERT (1) fand in 95 % der untersuchten Fälle einen Anti-A Titer zwischen 32 und 2048, - der häufigste Wert war 256 - und einen Anti-B Titer zwischen 8 und 512, - mit einem häufigsten Wert von 64 -. Innerhalb der Blutgruppe 0 war der Anti-A Titer gewöhnlich höher als der Anti-B Titer. Außerdem lagen die Antikörpertiter in der Blutgruppe 0 jeweils über den entsprechenden Antikörpertitern der Blutgruppen A und B (28, 58). Zwar gibt es auch in anderen Blutgruppensystemen Isoantikörper, z.B. im MNS-System (36), jedoch sind diese sehr selten. Es sind meist Kälteantikörper, die bei 37°C kaum ihre Wirkung entfalten können. Da die vorliegenden Versuche bei 37°C durchgeführt wurden, war nur eine Bestimmung der Antigene und Antikörper des ABO-Systems notwendig.

3 Methodik

3.1 Verwendete Rheoskope

3.1.1. Aggregometer nach Klose

Um das Verhalten der Agglutinate in viskosimetrischer Strömung zu messen, wurde vor allem das von KLOSE und SCHMID-SCHÖNBEIN entwickelte Aggregometer verwendet (32) (Abb. 1).

Die Meßkammer (1) besteht aus einer Plexiglasplatte und einem Plexiglaskegel (2) mit einem Kegelwinkel von 3° . Die Meßkammer ist umgeben von einem Wärmebad (3), das es ermöglicht, alle Versuche bei einer konstanten Temperatur von 37°C durchzuführen. Der Plexiglaskegel wird über einen variablen Servo-Motor angetrieben. Ein Potentiometer ermöglicht beliebige Einstellungen der Umdrehungszahl zwischen 0.6 und 60 UPM. Mit einem eingebauten Schalter kann man die Umdrehungszahl plötzlich verändern. So gelingt es, von der maximalen Geschwindigkeit ($\dot{\gamma} = 460 \text{ sec}^{-1}$) auf jede kleinere Geschwindigkeit, im Extremfall also auf Stop, umzuschalten und umgekehrt. Diese Anordnung erlaubt es also, die Blutprobe zwischen Kegel und Platte Schergraden zwischen 1 sec^{-1} und 460 sec^{-1} auszusetzen.

In einem Abstand von 20 mm von der Kegelmitte werden Kegel, Probe und Platte durchleuchtet (4). Das durchscheinende Licht wird von einer Photozelle (13) registriert, die ihre Signale an einen DC-Kompensations-schreiber (14) weiterleitet. Mit Hilfe eines elek-

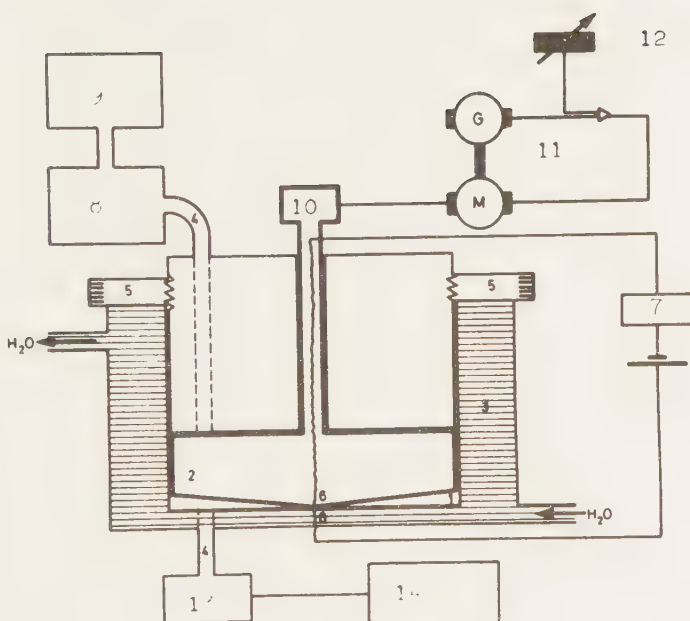


Abb. 1: Aufbau des verwendeten Rheoskops

1=Meßkammer, 2=Kegel, 3=thermostatischer Zylinder mit durchsichtiger Platte, 4=Glasfaserbündel, 5=Einstellring, 6=elektrische Kontaktpunkte an Kegelspitze und Platte, 7=Kontaktanzeiger, 8=Lichtquelle, 9=Konstantspannungsquelle, 10=Getriebe, 11=Generator G und Motor M mechanisch gekoppelt, 12=variabler Spannungsteiler, 13=Photozelle, 14=Verstärker und Kompensationsschreiber.

trischen Kontaktes (6) gelingt es, den Abstand Kegel-Platte auf $10\mu\text{m}$ genau einzustellen. Danach läßt sich der Schergrad bezogen auf die Umdrehungsgeschwindigkeit des Kegels auf $\pm 5\%$ berechnen. Dies gelingt mit der Gleichung

$$\dot{\gamma} = \frac{1}{\sin \alpha} \cdot \Omega$$

wobei α der Winkel zwischen Kegel und Platte ist und Ω die Winkelgeschwindigkeit des Kegels.

Die Lichttransmission einer Blutprobe ist vom unterschiedlichen Verhalten der Erythrozyten bei wechselnden Schergraden bestimmt. In Stase oder bei sehr niedrigen Schergraden sind die Zellen aggregiert.

Durch die freien Plasmalücken fällt viel Licht. Ein hoher Transmissionswert wird registriert. Bei Zunahme der Schergrade zerreißen die Rouleaux oder Agglutinate bis nur noch Einzelzellen im Plasma vorliegen. In diesem Augenblick erreicht die Transmission ihren Minimalwert ($\dot{\gamma}_{\text{Tmin}}$). Bei weiterer Erhöhung des Schergrades verformen sich die Erythrozyten und passen sich der Strömung an, d.h. sie orientieren sich. Hierbei nimmt die Lichttransmission wieder zu. Der $\dot{\gamma}_{\text{Tmin}}$ ist somit der Schergrad, bei dem gerade alle Zellaggregate dispergiert gehalten werden. Er ist daher ein Maß für die Widerstandsfähigkeit von Aggregaten oder Agglutinaten gegen die Strömungskräfte.

Die Versuche wurden so durchgeführt, daß die Schergrade von 460 sec^{-1} in gleich großen Schritten bis T_0 verringert wurden. Zwischen den einzelnen Meßstufen wurde regelmäßig die maximale Geschwindigkeit vorgegeben, um vor jeder neuerlichen Messung eine jeweils gleich gute Durchmischung der Blutprobe zu erreichen.

Im Vollblut eines gesunden Menschen kommt es in Stase zu einer stärkeren Transmissionszunahme als bei langsamer Strömung, d.h. in Stase ist die Aggregatbildung stärker ausgeprägt. Bildet man nun aus den Relativwerten der Photospannungen bei Minimalgeschwindigkeit T_7 (= T bei 7 sec^{-1}) und bei Stase T_0 einen Quotienten $\frac{T_7}{T_0}$ und setzt die Werte ein, die sich nach jeweils 1 Minute Messung ergeben, so wird sich im obigen Fall immer ein Wert kleiner als 1,0 ergeben. Der Quotient wird FSAR (Flow to Stasis Aggregation Ratio) genannt.

Lagern sich hingegen die Erythrozyten bei langsamer Strömung besser aneinander als in Stase, so erhält man einen Quotienten $\frac{T_7}{T_0}$ größer 1,0. Dies ist vor allem in pathologisch veränderten Plasmen der Fall.

Um zu erfahren, wie schnell sich in Stase Aggregate bilden, schaltet man plötzlich von maximaler Geschwindigkeit auf Stop um. Die Erythrozyten durchlaufen jetzt in kürzester Zeit alle vorher beschriebenen Veränderungen in umgekehrter Reihenfolge aus der Orientierung über die Desorientierung zur Aggregatbildung. Daher fällt die Lichttransmission und damit der Photostrom direkt nach dem Umschalten ab, um anschließend wieder anzusteigen. Der Anstieg des Photostroms V ($\frac{dV}{dt} = I$) ändert sich exponentiell in Abhängigkeit von der Zeit und läßt sich nach folgender Formel berechnen:

$$I = I_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

Mißt man nun diesen Anstieg als Funktion der Zeit und trägt ihn halblogarithmisch als Funktion der Zeit auf, so gewinnt man eine Gerade. An dieser läßt sich die Halbwertszeit $t/2$ ablesen und damit die Aggregationskonstante ($\lambda = \frac{\ln 2}{t/2}$) errechnen. Da die Zunahme der Lichttransmission von der Zahl der noch nicht aggregierten Erythrozyten und den schon gebildeten Aggregaten abhängt, ergibt sich für den Transmissionsanstieg eine exponentielle Funktion (54).

3.1.2. Abgewandelte Ausführung des Aggregometers:

sog. "Minirheoskop"

Die Ergebnisse der Verdünnungsreihen wurden mit Hilfe des sog. Minirheoskops, d.h. einer verkleinerten Version des Rheoskops gewonnen. Es arbeitet nach demselben Prinzip wie das oben beschriebene Aggregometer, hat jedoch den Vorteil, daß für die Messungen nur 5 - 50 μ l Blut benötigt werden, im Gegensatz zu 3 - 4 ml im großen Aggregometer. Außerdem kann man über ein Mikroskop gleichzeitig mit der photometrischen Registrierung die Vorgänge in der Meßkammer direkt beobachten.

3.1.3. Gegenrotatorisches Rheoskop zur filmischen Dokumentation

Ein weiteres, im Rahmen der Versuchsdurchführung verwendetes Rheoskop war das von SCHMID-SCHÖNBEIN und VON GÖSEN (51) angegebene gegenrotatorische Platte - Kegel Rheoskop. Mit Hilfe eines invertierten Interferenzkontrast-Mikroskops kann man die Vorgänge in der Kammer beobachten und photographisch festhalten. (Abb. 2) Bei diesem Rheoskop drehen sich Kegel und Platte um eine gemeinsame Achse mit gleicher Geschwindigkeit, jedoch in entgegengesetzter Richtung.

Dadurch erhält man im Strömungsprofil eine stationäre Schicht. Die Erythrozyten, die sich in dieser Schicht befinden, bewegen sich demnach für den Beobachter nicht fort. Sie unterliegen jedoch der in der Kammer bestehenden definierbaren viskometrischen Scherströmung.

Die Schergrade $\dot{\gamma}$ lassen sich aus der Dicke (d) der Flüssigkeitsschicht und der Umfangsgeschwindigkeit (v) von Platte und Kegel an der Beobachtungsstelle berechnen: $\dot{\gamma} = \frac{2v}{d}$ (sec⁻¹).

Um den Einfluß der an der Zelle haftenden Antikörper auf die Verformbarkeit der Zellen zu bewerten, wurden Erythrozyten in gereinigtem Dextran (MG 60000) suspendiert und bei verschiedenen Schergraden photographiert. Die Konzentration der Erythrozyten wurde so gewählt, daß man die Einzelzellen gut beobachten konnte, Um die Bildung von "Echinozyten" zu verhindern, wurde dem Dextran Humanalbumin zugesetzt (0.25 g / 100 ml). Die verwendete Dextranlösung besitzt eine sehr hohe Viskosität (16 cP).

Gemäß der Gleichung

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (\text{dyn} / \text{cm}^2),$$

wobei τ die Schubspannung ist, η die Viskosität und $\dot{\gamma}$ der Schergrad, gerlingt es, in Dextran bei

gleichem Schergrad eine höhere Schubspannung auf die Erythrozyten einwirken zu lassen als bei Suspension der Zellen in Plasma, dessen Viskosität bei etwa 1.2 cP liegt.

Zur Bestimmung der Elongation (E) der Erythrozyten bei ansteigenden Schergraden wurde die Länge ihrer Projektion auf die Strömungsrichtung (l') und ihre Breite (b) ausgemessen. Nach der Formel

$$\frac{l' - b}{l' \times b} = E$$

wurde ein Faktor für die Verformbarkeit errechnet. Findet keine Verformung statt, also $l' = b$, so wird $E = 0$. Mit zunehmender Verformung vergrößert sich der Wert für E ($0 < E < 1$).



Abb. 2:

Elongation von Erythrozyten der Blutgruppe A inkubiert im Plasma Gruppe O suspendiert in Dextran 60 000 bei viskometrischer Strömung. Schergrad: $\dot{\gamma} = 1060 \text{ sec}^{-1}$.

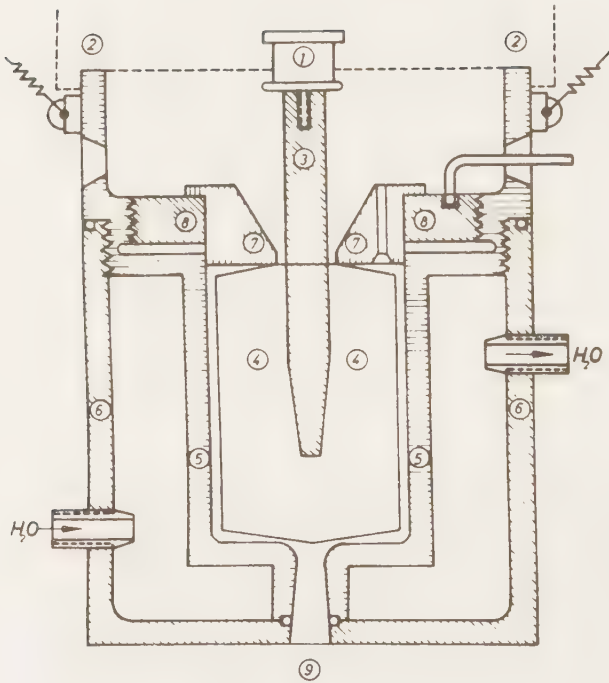


Abb. 3: Aufbau des verwendeten Viskosimeters
 1=Meßanzeiger, 2=Gewindering, 3=Stahlfeder, 4=Plexiglas-
 zylinder, 5=Kammer, 6=Wärmebad, 7=Deckplatte, 8=Gewinde-
 ring, 9=Einfüllstutzen.

3.2. Viskosimeter nach Wells-Brookfield

Die Viskosität (η) des Blutes ändert sich nach der oben angegebenen Formel in Abhängigkeit von Schubspannung bzw. Schergrad. Gibt man einen bestimmten Schergrad vor und mißt die Schubspannung, so kann man die jeweilige Viskosität berechnen (48, 64). Abb. 3 zeigt das hierzu verwendete Viskosimeter.

Es ist ein Wells-Brookfield Mikroviskosimeter mit einer Zusatzkammer, in der die Platte-Kegel-, mit einer Couette-Anordnung verbunden ist (53). Ein Plexiglaszylinder (4) dreht sich in einer Kammer (5). Über eine Stahlfeder (3) mit bekannter Federkonstante ist er mit dem Meßanzeiger (1) des Wells-Brookfield Viskosimeters verbunden. Eine Deckplatte (7) schließt die Kammer nach oben ab und verhindert die Ausbildung von Oberflächenartefakten an der Grenzfläche Blut - Luft. Diese Oberflächenversteifungen würden bei Messungen mit niedrigem Schergrad zu hohe Viskositätswerte vortäuschen. Zwei in ihrer Höhe verstellbare Gewinderinge (2,8) erlauben es, den Kegel in einem definierten Abstand von Kammerboden und Deckplatte zu halten und diese Einstellung jederzeit wiederholen zu können. Damit ist die Voraussetzung für stets gleiche Messungen geschaffen.

Ein um die Meßkammer gebautes Wärmebad (6) ermöglicht Versuchsreihen bei beliebigen Temperaturen. Das Instrument wird von einem Synchronmotor angetrieben. Mit Hilfe eines Sinusgenerators mit variablem Getriebe sind Schergrade zwischen 0.23 und 160 sec^{-1} einstellbar. Die absolute Viskosität des Blutes läßt sich auf Grund der erhaltenen Meßergebnisse nach der Formel berechnen

$$\gamma = \eta \cdot \bar{D} \quad (\text{dyn} / \text{cm}^2)$$

mit

$$\bar{D} = \Omega \cdot \left(\frac{R_1^2 + R_2^2}{R_1^2 - R_2^2} \right) \quad (\text{sec}^{-1})$$

wobei Ω die Winkelgeschwindigkeit des Kegels ist und R_1 und R_2 die Radien des inneren bzw. äußeren Zylinders sind.

Normales Vollblut zeigt hohe Viskositätswerte bei niedrigen Schergraden, die Erythrozyten sind desorientiert und zu Rouleaux zusammengelagert. Bei hohen Schergraden zeigt es wesentlich niedrigere Viskositätswerte, die Zellen sind jetzt in Strömungsrichtung orientiert und verhalten sich wie Flüssigkeitstropfen in einer Lösung (46, 52).

3.3. Aufbereitung der Blutproben

Bei allen Versuchen wurde menschliches, venöses Blut verwendet. Das Plasma wurde durch EDTA (Dinatrium-Äthylendiamintetraacetat, 1.5 mg / ml) ungerinnbar gemacht. Zur Serumgewinnung wurde Vollblut bis nach Abschluß der Gerinnungsvorgänge stehen gelassen. Danach wurde das Serum abzentrifugiert. Die Erythrozyten erhielt man durch Zentrifugieren des ungerinnbar gemachten Vollblutes und Abheben des Plasmas. Für die Versuche im Aggregometer wurden ungewaschene, einmal und dreimal gewaschene Erythrozyten verwendet. Das Waschen geschah mit einer isotonischen, phosphatgepufferten NaCl-Lösung, der 0.25 g Humanalbumin pro 100 ml zugesetzt waren. Die so vorbehandelten Zellen wurden jeweils mit den Plasmen oder Seren der anderen Blutgruppen gemischt und der Hämatokrit auf 45 % ($\pm$ 1 %) bzw. 60 % ($\pm$ 1 %) eingestellt.

Bei den Messungen im Viskosimeter wurden grundsätzlich ungewaschene Zellen verwendet. Der Hämatokrit war stets 45 % ($\pm$ 1 %). Als Kontrolle wurden jeweils Erythrozyten in eigenes Plasma oder Serum rücksuspendiert und ein Hämatokrit von 45 % ($\pm$ 1 %) eingestellt.

Für die Verdünnungsversuche wurde das Plasma in geometrischer Reihe durch gepufferte, isotonische NaCl-Albumin-Lösung (s.o.) verdünnt. Auch hier wurde ein Hämatokrit von 45 % ($\pm$ 1 %) eingestellt.

3.4. Bestimmung des Antikörpertiters

Die Antikörpertiterbestimmung geschah folgendermaßen:

Das Plasma wurde durch Zugabe von gepufferter, isotonischer NaCl-Albumin-Lösung (s.o.) in geometrischer Reihe verdünnt. Den jeweils 0.4 ml Lösung wurden 0.4 ml einer 1 %igen Erythrozytenaufschwemmung zugesetzt. Die Ablesung erfolgte unter dem Mikroskop nach einer zweistündigen Inkubationszeit bei Zimmertemperatur. Eine Agglutination von 3 - 4 Zellen wurde als positiv bewertet.

4 Ergebnisse

4.1. Agglutination von Erythrozyten in Plasma und Serum

4.1.1. Agglutination und Dispersion von Erythrozyten

bei schneller Strömung ($\dot{\gamma}_{Tmin}$)

Im großen Aggregometer wurde versucht, die Agglutinate, die sich bei Mischung der verschiedenen Blutgruppen miteinander gebildet hatten, durch Erhöhung der Schergrade zu dispergieren. War dies möglich, so erreichte die Lichttransmission einen Minimalwert ($\dot{\gamma}_{Tmin}$), um dann bei noch höheren Schergraden, bei denen sich die Erythrozyten in Strömungsrichtung orientierten, wieder zuzunehmen. Waren die bindenden Kräfte in den Agglutinaten größer als die maximal erreichbaren Scherkräfte (460 sec^{-1}), so konnte kein $\dot{\gamma}_{Tmin}$ gemessen werden, d.h. $\dot{\gamma}_{Tmin} > 460 \text{ sec}^{-1}$. Bei den durchgeführten Versuchen fand sich für die verschiedenen Blutgruppengemische eine Streuung des $\dot{\gamma}_{Tmin}$ über den ganzen Meßbereich (s. Tabelle 1). Die Proben mit Agglutination waren schwerer zu dispergieren als die Kontrollmischungen. Es zeigte sich auch ein Unterschied im $\dot{\gamma}_{Tmin}$ in Abhängigkeit vom verwendeten Plasma. So waren im Plasma der Gruppe O im allgemeinen höhere Schergrade notwendig als in Plasmen der Blutgruppen A und B, um die Agglutinate zu zerschneiden.

Bei 2 Versuchen mit den Plasmen der Blutgruppe O war es mit der verwendeten Apparatur nicht möglich, eine vollständige Auflösung der Klumpen zu erreichen ($\dot{\gamma}_{Tmin} \gg 460 \text{ sec}^{-1}$). Bei anderen Untersuchungen im Plasma O war jedoch schon bei einem Schergrad von $\dot{\gamma}_{Tmin} = 54 \text{ sec}^{-1}$ ein Minimum der Lichttransmission festzustellen. Verwendete man die Plasmen der anderen Blutgruppen, so streute der $\dot{\gamma}_{Tmin}$ über den ganzen Bereich der einstellbaren Schergrade. Es bestand eine Häufung der $\dot{\gamma}_{Tmin}$ -Werte bis zu einem Schergrad von $\dot{\gamma}_{Tmin} = 100 \text{ sec}^{-1}$. Der $\dot{\gamma}_{Tmin}$ der 60 %igen Lösungen war nie höher als derjenige der Suspensionen mit Hämatokrit 45 %. In der überwiegenden Zahl der Versuche war er bedeutend kleiner, d.h. kleinere Strömungskräfte reichten zur Dispersion aus. Wurde bei Versuchen das Serum der vier Blutgruppen verwendet, ergaben sich signifikante Unterschiede zu den entsprechenden Untersuchungen im Plasma (s. Tabelle 2). Im Serum waren die minimalen Transmissionswerte ($\dot{\gamma}_{Tmin}$) mit wesentlich geringeren Schergraden zu erreichen als im Plasma. Die Kontrollproben, d.h. alle Proben, in denen keine Antigen-Antikörperreaktion auftrat, wie zum Beispiel Zellen der Gruppe O in Plasma oder Serum der Gruppen A oder B, zeigten immer einen niedrigeren $\dot{\gamma}_{Tmin}$ als die Hauptproben, er lag zwischen $\dot{\gamma}_{Tmin} = 7 \text{ sec}^{-1}$ und $\dot{\gamma}_{Tmin} = 30 \text{ sec}^{-1}$ im Serum und zwischen $\dot{\gamma}_{Tmin} = 7 \text{ sec}^{-1}$ und $\dot{\gamma}_{Tmin} = 98 \text{ sec}^{-1}$ im Plasma.

ZELLEN

	45	0	60	45	A	60	45	B	60	45	AB	60	Htc(%)
PLASMA													
0	35 ±4 (13)			305 ±68 (5)	194 ±85 (5)		135 ±61 (5)	66 ±52 (5)		264 ±68 (5)	139 ±81 (5)		SEM n
				p<0.20			p<0.20			p<0.20			
A	30 ±7 (5)	14 ±3 (5)		41 ±6 (13)			53 ±11 (7)	17 ±4 (7)		76 ±14 (5)	23 ±3 (5)		SEM n
	p<0.10						p<0.025			p<0.025			
B	40 ±6 (5)	20 ±2 (5)		120 ±51 (7)	54 ±10 (7)		41 ±3 (12)			198 ±78 (6)	78 ±34 (6)		SEM n
	p<0.05			p<0.15						p<0.15			
AB	28 ±2 (5)	14 ±3 (5)		49 ±5 (5)	18 ±0 (5)		30 ±5 (6)	20 ±2 (6)		32 ±4 (12)			SEM n
	p<0.025			p<0.005			p<0.10						

Tab. 1:

Mittelwerte, SEM und Signifikanz der Schergrade, bei denen für verschiedene Blutgruppengemische in PLASMA minimale Lichttransmission (γ_{Tmin}) gemessen wurde. Htc 45 % und Htc 60 %. Für $\gamma_{Tmin} > 460 \text{ sec}^{-1}$ wurde der Wert $\gamma = 460 \text{ sec}^{-1}$ eingesetzt.

	45	0	60	45	A	60	45	B	60	45	AB	60	Htc(%)
SERUM													
0	12 ±2 (11)			44 ±6 (5)	35 ±8 (5)		86 ±50 (5)	30 ±10 (5)		131 ±64 (5)	97 ±70 (5)		SEM n
				p<0.25			p<0.20			p<0.40			
A	9 ±2 (5)	7 ±0 (5)		13 ±2 (6)			72 ±11 (5)	23 ±3 (5)		25 ±8 (5)	11 ±3 (5)		SEM n
	p<0.20						p<0.012			p<0.10			
B	14 ±3 (5)	7 ±0 (5)		48 ±13 (5)	25 ±7 (5)		20 ±4 (6)			37 ±7 (5)	23 ±6 (5)		SEM n
	p<0.05			p<0.15						p<0.15			
AB	9 ±2 (5)	9 ±2 (5)		23 ±3 (5)	14 ±3 (5)		11 ±3 (5)	11 ±3 (5)		15 ±4 (7)			SEM n
				p<0.10									

Tab. 2:

Mittelwerte, SEM und Signifikanz der Schergrade, bei denen für verschiedene Blutgruppengemische in SERUM minimale Lichttransmission (γ_{Tmin}) gemessen wurde. Htc 45 % und Htc 60 %.

4.1.2. Agglutinationsverhalten von Erythrozyten bei langsamer Strömung (FSAR)

Als weiteres interessierte der Vergleich zwischen der Lichttransmission bei langsamer Geschwindigkeit T_7 ($= T$ bei 7 sec^{-1}) und derjenigen bei Stase T_0 ($= T$ bei 0 sec^{-1}). Es wurden die Relativwerte nach jeweils 1 Minute Messung in die Formel $\frac{T_7}{T_0} \rightarrow \text{FSAR}$ eingesetzt (s. S. 13). Unter der Voraussetzung, daß die Lichttransmission bei minimaler Geschwindigkeit größer ist als in Stase, d.h., daß sich im Fluß stärker Agglutinate bilden als in Ruhe, ergibt sich ein Quotient (FSAR) größer 1. Wenn die Erythrozyten in Stase ihre stärkste Aggregationsneigung zeigen, erhält man einen FSAR kleiner 1. Die höchsten Werte für den FSAR ($\frac{T_7}{T_0} > 1$) erbrachten die Versuche mit Plasma und Serum der Blutgruppen O und B (s. Tabelle 3). Bei den anderen Blutmischungen war das Verhältnis $\frac{T_7}{T_0} < 1$. Beim Plasma und Serum der Blutgruppe A ließ sich aus der Höhe des FSAR kein Unterschied zwischen den Kontrollmessungen und den Proben mit Antigen-Antikörperreaktion herausfinden. Die FSAR-Werte von Plasma und Serum liegen sehr nahe beieinander, wobei im Serum die Mittelwerte meist etwas größer sind. Ein signifikanter Unterschied ist jedoch nicht erkennbar (s.a. Abb. 4 u. 5). Bei einigen Versuchen mit Plasmen der Blutgruppe O und Zellen der inkompatiblen Gruppen A, B und AB erreichte die Lichttrans-

mission ihren höchsten Wert nicht bei Minimalgeschwindigkeit T_7 ($= T$ bei 7 sec^{-1}) sondern bereits bei T_{25} ($= T$ bei 25 sec^{-1})

Die errechneten Werte für den FSAR, bei Messungen mit Hämatokrit 60 % sind kleiner als diejenigen bei Hämatokrit 45 %. (s. Tabelle 3) Dies fällt besonders auf bei Plasma und Serum der Blutgruppe B, wo der Quotient bei Mischungen mit den antigen wirksamen Zellen der Gruppen A und AB kleiner 1 sind.

		ZELLEN								
		0		1 A		1 B		1 AB		
Htc		1	2	1	2	1	2	1	2	
0	45 %	0.91 ±0.09 (10)	0.91 ±0.03 (10)	1.19 ±0.12 (5)	1.19 ±0.15 (5)	1.08 ±0.13 (5)	1.06 ±0.10 (5)	1.17 ±0.05 (5)	1.22 ±0.09 (5)	SD n
	60 %			1.10 ±0.14 (5)	1.14 ±0.18 (5)	1.03 ±0.08 (5)	1.04 ±0.11 (5)	1.08 ±0.07 (5)	1.14 ±0.09 (5)	SD n
A	45 %	0.87 ±0.02 (5)	0.91 ±0.02 (5)	0.89 ±0.03 (8)	0.90 ±0.03 (6)	0.92 ±0.04 (6)	0.96 ±0.06 (5)	0.89 ±0.02 (5)	0.91 ±0.03 (5)	SD n
	60 %	0.86 ±0.02 (5)	0.92 ±0.06 (5)			0.90 ±0.04 (6)	0.97 ±0.07 (5)	0.89 ±0.01 (5)	0.92 ±0.03 (5)	SD n
B	45 %	0.87 ±0.02 (5)	0.87 ±0.02 (5)	1.01 ±0.06 (5)	1.00 ±0.00 (5)	0.89 ±0.02 (5)	0.89 ±0.04 (5)	1.01 ±0.05 (5)	1.00 ±0.04 (5)	SD n
	60 %	0.86 ±0.03 (5)	0.90 ±0.04 (5)	0.92 ±0.05 (7)	0.98 ±0.03 (5)			0.95 ±0.02 (5)	0.96 ±0.04 (5)	SD n
AB	45 %	0.90 ±0.02 (5)	0.90 ±0.02 (5)	0.88 ±0.02 (5)	0.90 ±0.03 (5)	0.90 ±0.01 (5)	0.93 ±0.03 (5)	0.89 ±0.02 (5)	0.91 ±0.01 (5)	SD n
	60 %	0.87 ±0.03 (5)	0.91 ±0.03 (5)	0.86 ±0.01 (5)	0.88 ±0.01 (5)	0.87 ±0.03 (5)	0.91 ±0.05 (5)			SD n

Tab. 3:

Vergleich des FSAR verschiedener Blutgruppenmischungen mit einem Htc von 45 % und 60 % in PLASMA (1) und SERUM (2).

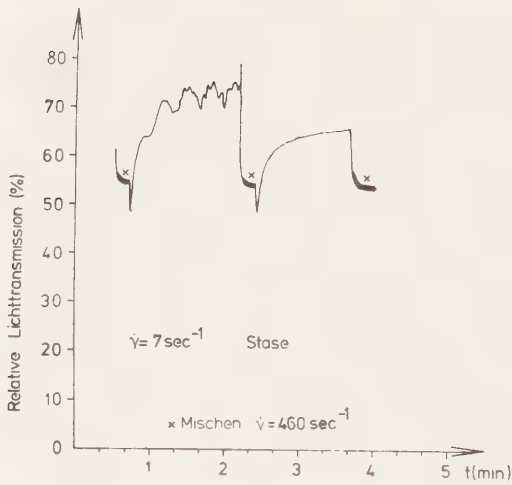


Abb. 4: Registrierung der Lichttransmission bei verschiedenen Schergraden in Abhängigkeit von der Zeit (t). Zellen der Gruppe A bei einem Htc von 45 % in PLASMA der Gruppe O suspendiert.

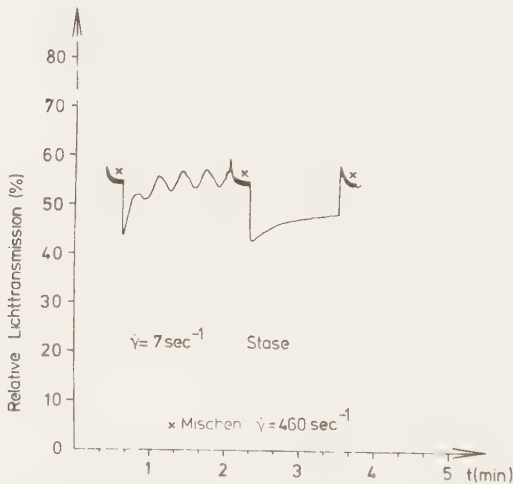


Abb. 5: Registrierung der Lichttransmission bei verschiedenen Schergraden in Abhängigkeit von der Zeit (t). Zellen der Gruppe A bei einem Htc von 45 % in SERUM der Gruppe O suspendiert.

4.1.3. Agglutinationsverhalten von Erythrozyten in Stase ($t/2$)

Die Resultate der Halbwertszeit $t/2$ waren sehr uneinheitlich (s. Tabelle 4, 5, 6). Im Plasma hatten die Proben mit Agglutination keine kürzere Halbwertszeit aufzuweisen als die Proben, in denen nur eine Aggregation stattfand. Auch für die einzelnen Blutgruppen ließ sich keine bevorzugte Halbwertszeit erkennen. Die Gruppe O, die bei allen anderen Versuchen deutliche Unterschiede zu den drei anderen Gruppen A, B und AB aufwies, zeigte keine schnellere Halbwertszeit als die anderen Blutgruppen. Von 66 Vergleichspaaren der Halbwertszeit bei Hämatokrit 45 % und Hämatokrit 60 % war in 62 Fällen $t/2$ bei Hämatokrit 60 % kleiner als $t/2$ bei Hämatokrit 45 %. In 4 Fällen hatten die Vergleichspaare dieselbe Halbwertszeit. Es ließ sich wegen der starken Schwankungen der Halbwertszeit nur in 3 Fällen ein signifikanter Unterschied zwischen $t/2$ bei Hämatokrit 45 % und $t/2$ bei Hämatokrit 60 % errechnen (s. Tabelle 7). Bei Versuchen mit Serum war die Halbwertszeit der entsprechenden Proben um ein Vielfaches größer als im Plasma (s. Tabelle 4, 5, 7). Im Serum war die natürliche Streuung ebenfalls sehr groß, so daß den verschiedenen Blutgemischen, ebenso wie im Plasma keine charakteristische Halbwertszeit zugeordnet werden konnte.

PLASMA/SERUM O

ZELLEN

O A B AB

P	S	P	S	P	S	P	S
33	178	29	9.9	44	9.1	25	8.1
25	145	29	6.3	29	10.1	23	12.0
55	174	28	25.0	29	6.1	26	89
27	18.7	23	11.8	27	11.7	33	164
24	12.7	38	13.7	32	12.8	16	8.8
31	6.2	2.8	13.3	3.2	10.1	26	10.8
28	14.6						
29	7.8						
32	22.6						
27	18.8						
32	10.7						
21	7.7						
27	6.0						
30	13.5						

PLASMA/SERUM A

ZELLEN

A O B AB

P	S	P	S	P	S	P	S
27	19.1	28	13.9	26	4.5	22	6.0
43	14.4	58	22.6	23	6.1	23	29.7
35	9.3	71	27.6	44	6.3	30	22.0
29	10.7	29	22.9	28	11.7	26	5.9
25	7.9	28	15.8	36	8.3	41	8.1
32	8.8	4.3	21.4	20	7.4	29	14.0
25	11.7			31			
30				30			
21							
32							
28							
25							
30							
23							

PLASMA/SERUM B

ZELLEN

B O A AB

P	S	P	S	P	S	P	S
27	11.5	18	7.4	24	6.7	22	13.5
33	19.2	29	17.5	38	9.8	26	7.9
26	17.8	34	23.3	25	19.7	23	9.0
21	13.3	26	10.0	21	16.2	24	7.8
27	14.5	37	16.3	18	24.4	20	5.1
21	6.0	2.9	14.9	2.9		2.3	8.7
18	6.8						
22	12.7						
27		2.7					
16							
33							
23							
25							

PLASMA/SERUM AB

ZELLEN

AB O A B

P	S	P	S	P	S	P	S
27	12.7	39	16.5	6.5	8.8	31	10.6
23	6.4	24	10.8	40	6.5	35	12.3
27	15.8	32	23.9	35	9.2	35	5.5
27	7.8	26	5.2	59	8.7	45	8.5
45	8.6	31	18.0	31	5.2	34	10.7
27	5.2	30	14.9	4.6		4.5	9.5
33	4.4						
35	2.7						
25							
17							
44							
40							
34							

Tab. 4: Halbwertszeiten ($t/2$) und Mittelwerte von verschiedenen Blutgruppenmischungen mit einem Htc von 45 %. Zellen suspendiert in PLASMA (P) und SERUM (S).

PLASMA / SERUM 0
 ZELLEN

A		B		AB	
P	S	P	S	P	S
2.7	8.1	2.2	8.2	2.0	7.8
2.5	7.3	2.1	9.9	2.5	7.8
2.6	11.6	2.5	5.6	2.3	12.6
1.8	7.2	2.2	11.4	2.7	10.4
2.5	12.8	2.2	11.6	1.6	3.7
2.4	9.4	2.2	9.3	2.2	8.5

 PLASMA / SERUM A
 ZELLEN

0		B		AB	
P	S	P	S	P	S
2.3	8.8	1.8	4.2	1.8	20.7
4.3	17.3	2.0	4.2	2.7	7.7
6.5	20.5	3.5	6.4	2.8	4.0
2.3	13.6	1.9	5.2	2.2	9.6
2.1	8.6	2.7	5.6	2.9	5.0
3.5	13.8	1.4	5.1	2.5	9.4
		2.6			
		2.3			

 PLASMA / SERUM B
 ZELLEN

0		A		AB	
P	S	P	S	P	S
1.6	8.6	1.9	6.4	1.9	14.1
2.4	7.4	3.2	16.1	2.5	5.0
2.4	6.6	2.5	15.1	1.8	7.6
2.1	9.5	1.9	9.3	1.7	3.4
2.9	11.9	1.2	5.4	1.8	5.9
2.3	8.8	1.7	10.5	1.7	7.2
		2.9		1.9	
		2.3			

 PLASMA / SERUM AB
 ZELLEN

0		A		B	
P	S	P	S	P	S
3.7	9.0	5.5	8.8	2.4	3.6
2.1	9.9	3.0	5.2	2.5	3.6
2.7	13.3	2.9	4.8	3.5	9.8
2.0	4.1	3.4	6.3	2.9	4.4
3.1	10.4	2.2	4.5	2.7	12.2
2.7	9.3	3.4	5.9	2.6	6.7
				2.8	

Tab. 5: Halbwertszeiten ($t/2$) und Mittelwerte von verschiedenen Blutgruppenmischungen mit einem Htc von 60 %.
 Zellen suspendiert in PLASMA (P) und SERUM (S).

		ZELLEN									
		0		A		B		AB		Htc (%)	
PLASMA	45	60	45	60	45	60	45	60	45	60	
	3.0 ±0.8 (13)		2.9 ±0.5 (5)	2.4 ±0.4 (5)	3.2 ±0.7 (5)	2.2 ±0.2 (5)	2.6 ±0.6 (5)	2.2 ±0.4 (5)			SD n
			$p < 0.10$		$p < 0.05$		$p < 0.20$				
	4.3 ±2.0 (5)	3.5 ±1.9 (5)	2.9 ±0.6 (3)		3.0 ±0.8 (7)	2.3 ±0.7 (7)	2.9 ±0.7 (5)	2.5 ±0.5 (5)			SD n
	$p < 0.30$				$p < 0.10$		$p < 0.20$				
A	2.9 ±0.7 (5)	2.3 ±0.5 (5)	2.7 ±0.7 (7)	2.2 ±0.7 (7)	2.5 ±0.5 (12)		2.3 ±0.2 (6)	1.9 ±0.3 (6)			SD n
	$p < 0.15$		$p < 0.15$				$p < 0.05$				
B	3.0 ±0.6 (5)	2.7 ±0.7 (5)	4.6 ±1.5 (5)	3.4 ±1.3 (5)	3.8 ±0.6 (6)	2.8 ±0.4 (6)	3.4 ±0.7 (12)				SD n
	$p < 0.25$		$p < 0.15$		$p < 0.125$						
AB											

Tab. 6: Mittelwerte der Halbwertszeiten ($t/2$), SD und Signifikanzen verschiedener Blutgruppenmischungen in PLASMA bei einem Htc von 45 % und 60 %.

		ZELLEN									
		0		A		B		AB			
	45	60	45	60	45	60	45	60	45	60	
	13.5 ±5.5 (13)		13.3 ±7.1 (5)	9.4 ±2.6 (5)	10.1 ±2.4 (5)	9.3 ±2.5 (5)	10.8 ±3.5 (5)	8.5 ±3.3 (5)			SD n
			$p < 0.20$		$p < 0.35$		$p < 0.20$				
	21.4 ±6.2 (5)	13.8 ±5.2 (5)	11.7 ±4.3 (6)		7.4 ±2.8 (5)	5.1 ±0.9 (5)	14.0 ±10.3 (5)	9.4 ±6.7 (5)			SD n
	$p < 0.10$				$p < 0.10$		$p < 0.25$				
A	14.9 ±6.3 (5)	8.8 ±2.1 (5)	15.4 ±7.2 (5)	10.5 ±4.9 (5)	12.7 ±5.0 (7)		8.7 ±3.1 (5)	7.2 ±4.1 (5)			SD n
	$p < 0.10$		$p < 0.15$				$p < 0.30$				
B	14.9 ±7.1 (5)	9.3 ±3.3 (5)	7.7 ±1.7 (5)	5.9 ±1.7 (5)	9.5 ±2.6 (5)	6.7 ±4.0 (5)	8.7 ±4.1 (7)				SD n
	$p < 0.15$		$p < 0.15$		$p < 0.15$						
AB											

Tab. 7: Mittelwerte der Halbwertszeiten ($t/2$), SD und Signifikanzen verschiedener Blutgruppenmischungen in SERUM bei einem Htc von 45 % und 60 %.

4.1.4. Einfluß der Vorbehandlung von Erythrozyten auf die Agglutination.

Sowohl die agglutinierenden Proben als auch die Kontrollproben wurden jeweils mit ungewaschenen, einmal bzw. dreimal gewaschenen Erythrozyten in Plasma und Serum angesetzt. Um festzustellen, ob die Vorbehandlung der Zellen einen Einfluß auf ihr Aggregationsverhalten besitzt, wurden alle Mischungen denselben Versuchsbedingungen unterzogen, anschließend jeweils $FSAR$, $\dot{\gamma}_{Tmin}$ und $t/2$ ermittelt und die entsprechenden Werte miteinander verglichen. Es konnte kein Unterschied im Agglutinationsverhalten der Hauptproben, bzw. im Agglutinationsverhalten der Kontrollen mit verschiedenen vorbehandelten Zellen festgestellt werden (s. Tabelle 8).

		ZELLEN								
PLASMA		0		1 A		2 B		1 AB		
		1	2	1	2	1	2	1	2	
O	45%	0.91 ±0.09 (10)		1.19 ±0.12 (5)	1.14 ±0.08 (5)	1.08 ±0.13 (5)	1.07 ±0.10 (5)	1.17 ±0.05 (5)	1.16 ±0.04 (5)	SD n
	60%			1.10 ±0.14 (5)	1.12 ±0.17 (5)	1.03 ±0.08 (5)	1.01 ±0.11 (5)	1.08 ±0.02 (5)	1.10 ±0.06 (5)	SD n
A	45%	0.87 ±0.02 (5)	0.88 ±0.03 (5)	0.89 ±0.03 (6)		0.92 ±0.04 (6)	0.93 ±0.05 (5)	0.89 ±0.02 (5)	0.91 ±0.03 (5)	SD n
	60%	0.86 ±0.02 (5)	0.87 ±0.03 (5)			0.90 ±0.04 (6)	0.90 ±0.03 (5)	0.89 ±0.01 (5)	0.88 ±0.03 (5)	SD n
B	45%	0.87 ±0.02 (5)	0.86 ±0.02 (5)	1.01 ±0.06 (5)	0.99 ±0.04 (6)	0.89 ±0.02 (5)		1.01 ±0.05 (5)	1.01 ±0.06 (5)	SD n
	60%	0.86 ±0.03 (5)	0.85 ±0.03 (5)	0.92 ±0.05 (7)	0.91 ±0.05 (6)			0.95 ±0.02 (5)	0.95 ±0.04 (5)	SD n
AB	45%	0.90 ±0.02 (5)	0.88 ±0.01 (5)	0.88 ±0.02 (5)	0.88 ±0.04 (5)	0.90 ±0.01 (5)	0.90 ±0.03 (5)	0.89 ±0.02 (5)		SD n
	60%	0.87 ±0.03 (5)	0.88 ±0.02 (5)	0.86 ±0.01 (5)	0.86 ±0.04 (5)	0.87 ±0.03 (5)	0.89 ±0.03 (5)			SD n

Tab. 8:

Vergleich des FSAR verschiedener Blutgruppenmischungen mit ungewaschenen (1) und 3 x gewaschenen (2) Zellen in PLASMA bei einem Htc von 45 % und 60 %.

4.1.5. Auswirkung der Plasmaverdünnung auf die Agglutination

Um herauszufinden, bis zu welcher Verdünnungsstufe noch eine Agglutination im Aggregometer zu messen war, wurde das Plasma aller 4 Blutgruppen durch Zugabe von isotonischer phosphatgepufferter NaCl-Albumin (25%ig)-Lösung in geometrischer Reihe, verdünnt. Die Messung der auf einen Hämatokrit von 45 % eingestellten Proben erfolgte im sog. Minirheoskop. Der FSAR gestattet eine Aussage über die Agglutination bei minimalem Schergrad und bei Stase. Dabei zeigt sich in 24 von 27 Versuchen, daß spätestens bei einer Verdünnung von 1 : 4 ein sog. "Pseudo-FSAR" auftrat, d.h. weder bei der Minimalgeschwindigkeit noch in Stase fand eine Zunahme der Lichttransmission statt, d.h. es war keine Agglutination festzustellen. ⁺⁺ Manchmal fand sich in Stase sogar eine Abnahme der Lichttransmission, was bedeutet, daß im Fluß ausgerichtete Erythrozyten sich desorientierten, ohne zu agglutinieren (s. Abb. 6, 7). In 3 Fällen trat der Pseudo-FSAR erst bei der nächsthöheren Verdünnungsstufe von 1 : 8 auf.

⁺⁺ Der Quotient $\frac{T_7}{T_0}$ läßt sich ermitteln, unabhängig davon, ob eine Agglutination stattfindet oder nicht. Da aber definitionsgemäß für den FSAR eine Aggregation bzw. Agglutination gefordert wird, werden alle jene Quotienten, bei denen sich keine Agglutination feststellen läßt, als Pseudo-FSAR bezeichnet.

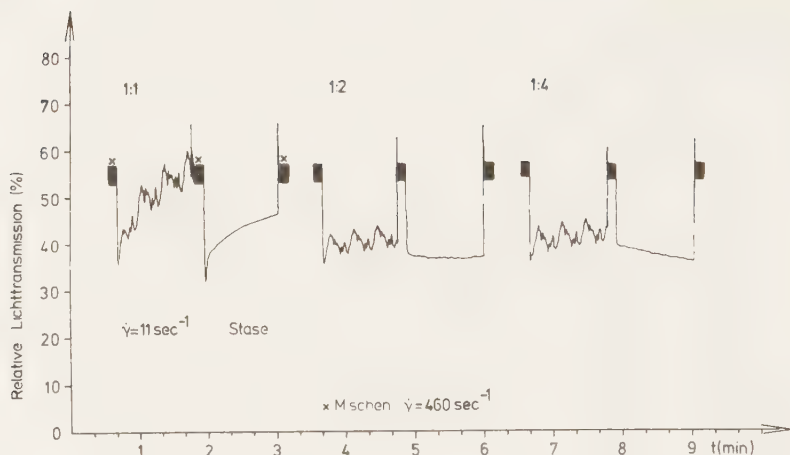


Abb. 6: Änderung der Lichttransmission in Abhängigkeit von Schergrad ($\dot{\gamma}$) und Zeit (t) bei Mischen von Zellen der Gruppe B in schrittweise verdünntem Plasma der Gruppe A. Htc 45 %, Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:4, Minirheoskop.

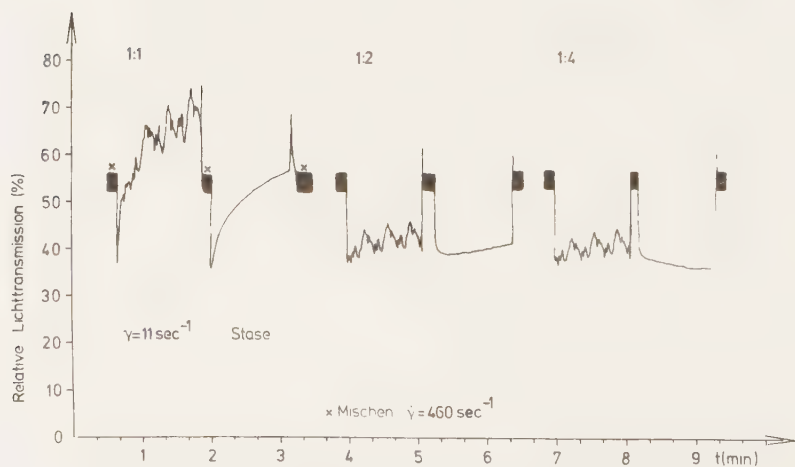


Abb. 7: Änderung der Lichttransmission in Abhängigkeit von Schergrad ($\dot{\gamma}$) und Zeit (t) bei Zellen der Gruppe A in schrittweise verdünntem Plasma der Gruppe B. Htc 45 %, Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:4, Minirheoskop.

4.2. Viskosimetrisches Verhalten der Agglutinate

Da aus den oben angeführten Versuchen offensichtlich geworden war, daß Agglutinate zerscherbar sind, sollte im Viskosimeter untersucht werden, ob sich aus dem Verhalten der scheinbaren Viskosität dieselbe Schlußfolgerung ableiten läßt. Es wurden inkompatible Proben und nicht agglutinierende Proben gemessen, dazu die jeweiligen Kontrollen mit Zellen im eigenen Plasma. Die inkompatiblen Mischungen zeigten im Vergleich zu den Kontrollen eine starke Zunahme ihrer Viskosität bei niedrigen Schergraden ($\dot{\gamma} = 15$ und 39 sec^{-1}), wogegen sich die Werte der relativen Viskosität bei höheren Schergraden gegenseitig annäherten ($\dot{\gamma} = 158 \text{ sec}^{-1}$) (s. Abb. 8).

Bei einem Teil der Versuchspersonen wurde der Antikörpertiter bestimmt, um festzustellen, ob eine direkte Beziehung zwischen der Höhe des Antikörpertiters und der gemessenen relativen Viskosität besteht. Es ließ sich jedoch keine eindeutige Abhängigkeit erkennen. Die Viskosität steigt nicht in jedem Fall mit der Höhe des Antikörpertiters an. Einige Proben mit niedrigen Antikörpertitern zeigten einen gleichgroßen oder noch stärkeren Viskositätsanstieg als Proben mit hohem Antikörpertiter.

Bei einer Spenderin, die der Blutgruppe O angehört, traten bei Mischungen mit Zellen der Blutgruppen A und AB extrem hohe Viskositätswerte auf. Es wurde auch der höchste aller, während dieser Arbeit gemessenen Antikörpertiter gefunden (Antikörpertiter 1 : 4096).

Beim Vergleich der Mittelwerte aller im Viskosimeter gefundenen Ergebnisse heben sich Suspensionen mit dem Plasma der Blutgruppe O als disperse Phase deutlich von den mit allen anderen Plasmen ab (s. Abb. 9 - 11).

Die höchsten Viskositäten zeigen die Versuche mit den Zellen der Blutgruppe A und AB im Plasma O.

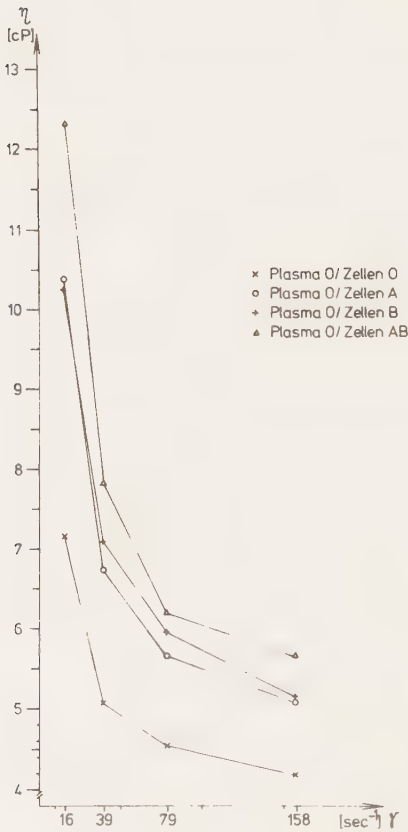


Abb. 8: Scheinbare Viskosität (η) verschiedener Suspensionen von Erythrozyten in kompatiblen und nicht kompatiblen Plasmen in Abhängigkeit vom Schergrad ($\dot{\gamma}$).

Suspendiert man Zellen der Gruppe B in Plasma der Gruppe A und Zellen der Gruppe A in Plasma der Gruppe B, so besitzen beide Mischungen in etwa die gleiche Viskosität. Die Zellen der Gruppe AB in Plasma der Gruppen A oder B zeigen etwas niedrigere Werte. Die niedrigsten Viskositäten besitzen die Blutproben ohne Antigen-Antikörperreaktion.

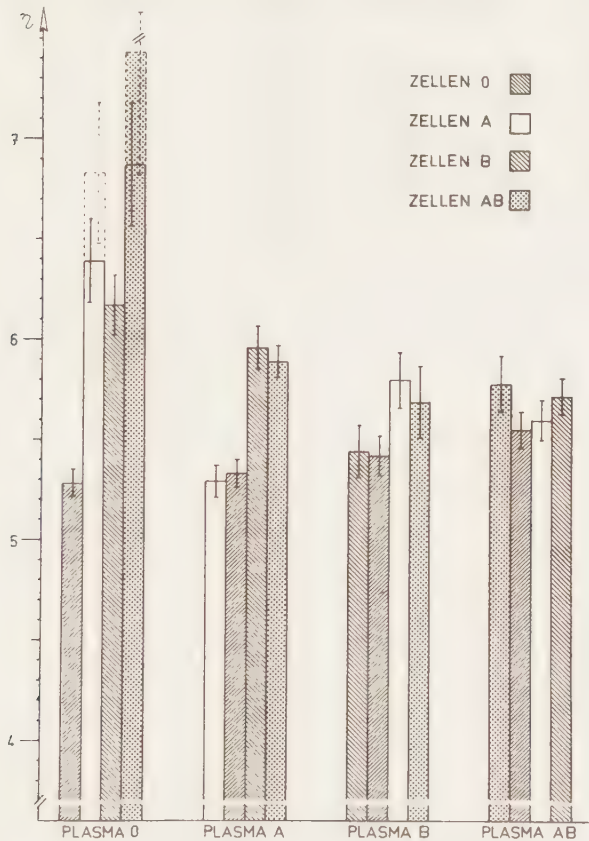


Abb. 9: Mittelwerte der scheinbaren Viskosität (η) und SEM verschiedener Blutgruppengemische mit einem Htc von 45 % bei einem konstanten Schergrad von $\dot{\gamma} = 39 \text{ sec}^{-1}$.

┌─┐ Mittelwerte von η , die zwei Versuche mit Anti-
└─┘ körpertiter 1:4096 einschließend.

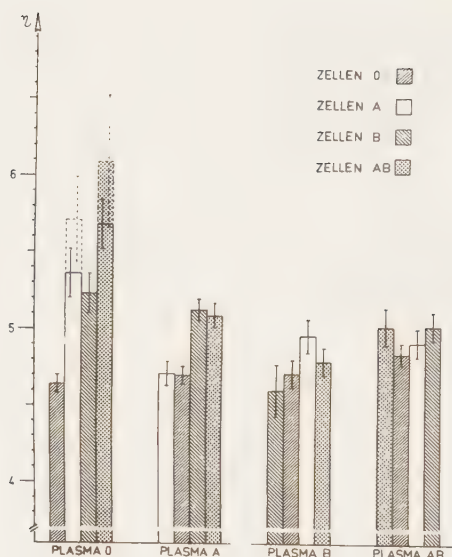


Abb. 10: Mittelwerte der scheinbaren Viskosität (η) und SEM verschiedener Blutgruppengemische mit einem Htc von 45 % bei einem konstanten Schergrad von $\dot{\gamma} = 79 \text{ sec}^{-1}$.
 Mittelwerte von η , die zwei Versuche mit Anti-körpertiter 1:4096 einschließend.

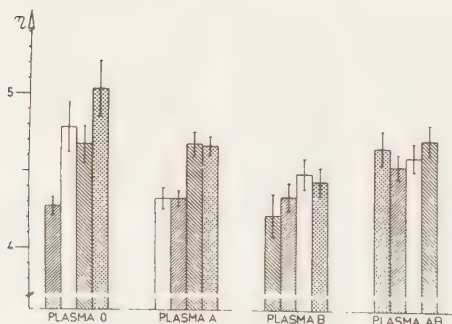


Abb. 11: Mittelwerte der scheinbaren Viskosität (η) und SEM verschiedener Blutgruppengemische mit einem Htc von 45 % bei einem konstanten Schergrad von $\dot{\gamma} = 158 \text{ sec}^{-1}$. Die Proben mit Antikörpertiter 1:4096 konnten bei diesem Schergrad mit der verwendeten Apparatur nicht mehr gemessen werden.

4.3. Auswertung der photographisch festgehaltenen Befunde

Mit Hilfe der Photographie sollte untersucht werden, ob die mit Antikörpern besetzten Erythrozyten in ihrer Verformbarkeit, d.h. in ihrer Ausrichtung bei hoher Strömung und in ihrer sog. Panzerkettenrotation beeinträchtigt werden. Hierfür wurden Zellen in Dextran (MG 60000) suspendiert und bei verschiedenen Schergraden photographiert. Bei unbehandelten Kontrollzellen ist bei den höchsten hier erreichbaren Schergraden $0.5 < E < 0.6$. Auch für die mit Antikörpern besetzten Zellen erhielten wir das gleiche Resultat. Das weist darauf hin, daß die einzelne antikörperbeladene Zelle in ihrer Elongation nicht beeinträchtigt ist (s. Abb. 12, 13).

Des weiteren wurden Blutproben mit Hämatokrit 45 % bei verschiedenen Schergraden photographiert und gefilmt, um die Dispersion der Agglutinate sichtbar zu machen. Bei der unten angeführten Serie von Aufnahmen (Abb. 14 - 19) wurden die Plasmen von zwei verschiedenen Spendern der Blutgruppe O verwendet. Die Bildreihen (Abb. 14, 16, 18) zeigen Erythrozyten der Gruppen A, B und AB im Plasma O der oben erwähnten Spenderin mit sehr hohem Antikörpertiter Anti A (1 : 4096) und normal hohem Antikörpertiter Anti B (1 : 512).

Die Abb. 15, 17, 19 zeigen Zellen im Plasma der Gruppe O mit Antikörpertitern Anti A 1 : 512 und Anti B 1 : 64.

Während bei einem Schergrad von etwa 600 sec^{-1} die Agglutinate der Proben mit einem durchschnittlich hohen Antikörpertiter dispergiert werden können (s. Photographien Abb. 15, 16, 17, 19), lassen sich die Klumpen bei den Proben mit Antikörpertiter 1 : 4096 selbst bei einem Schergrad von etwa 800 sec^{-1} noch nicht zerscheren.

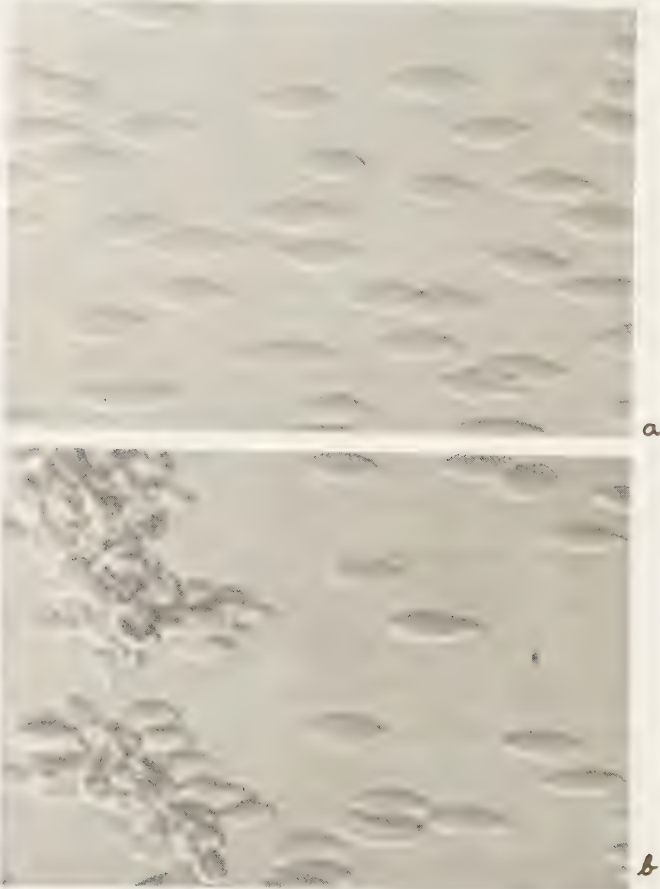


Abb. 12: Elongation von Zellen der Blutgruppe A, inkubiert im eigenen Plasma (a) bzw. Plasma O (b), suspendiert in Dextran 60 000 bei viskosimetrischer Strömung.
Schergrad: (a) $\dot{\gamma} = 934 \text{ sec}^{-1}$ (b) $\dot{\gamma} = 1019 \text{ sec}^{-1}$.



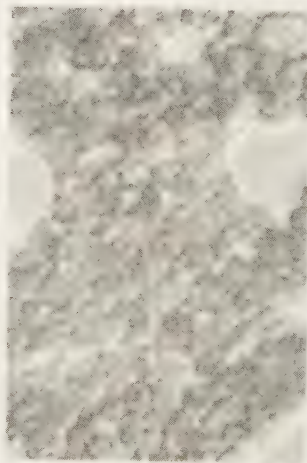
Abb. 13: Elongation $E \left(\frac{l' + b}{l + b} \right)$ von Erythrozyten der Gruppe B nach Inkubation in Plasmen Gruppe O, A und B in Abhängigkeit vom Schergrad ($\dot{\gamma}$). Suspensionsmedium während der Versuche Dextran 60 000.



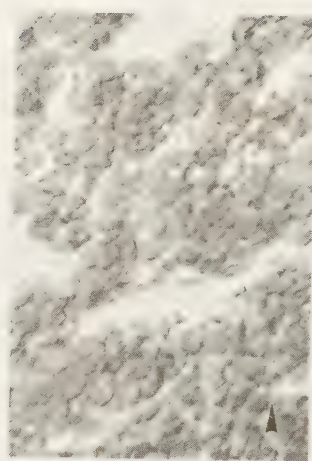
Stop ohne vorherige Scherung



maximale Scherung $\gamma = 700 \text{ sec}^{-1}$

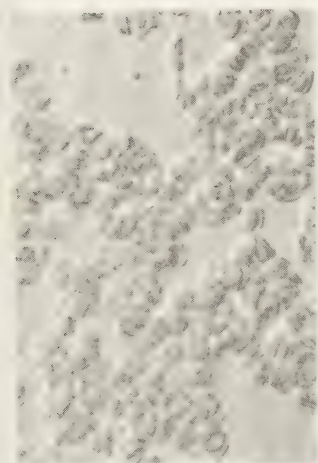


Stop nach maximaler Scherung

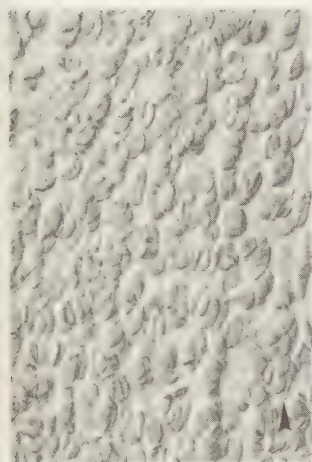


minimale Scherung $\gamma = 13 \text{ sec}^{-1}$

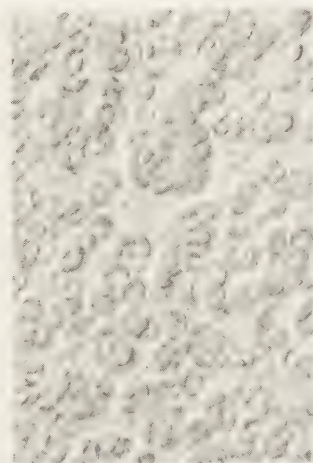
Abb. 14: Verhalten von Agglutinaten aus Zellen der Blutgruppe A im Plasma der Gruppe O in viskosimetrischer Strömung bei verschiedenen Schergraden. Antikörpertiter im Plasma O: Anti A: 1:4096 ; ▲ Strömungsrichtung.



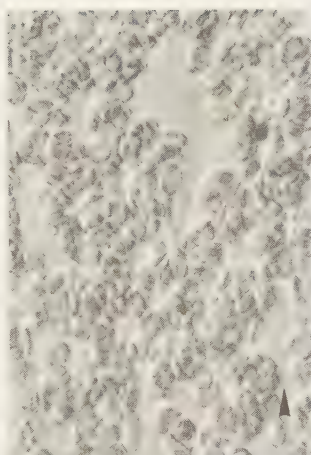
Stop ohne vorherige Scherung



maximale Scherung $\dot{\gamma} = 510 \text{ sec}^{-1}$



Stop nach maximaler Scherung

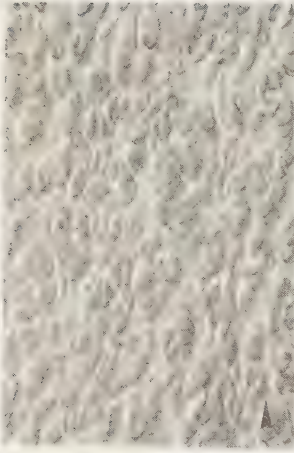


minimale Scherung $\dot{\gamma} = 11 \text{ sec}^{-1}$

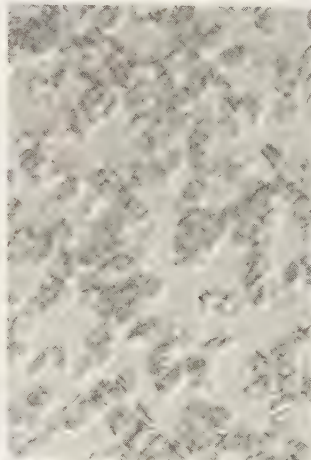
Abb. 15: Verhalten von Agglutinatzen aus Zellen der Blutgruppe A im Plasma der Gruppe O in viskometrischer Strömung bei verschiedenen Schergraden. Antikörpertiter im Plasma O: Anti A: 1:512 ; $\blacktriangleright$ Strömungsrichtung.



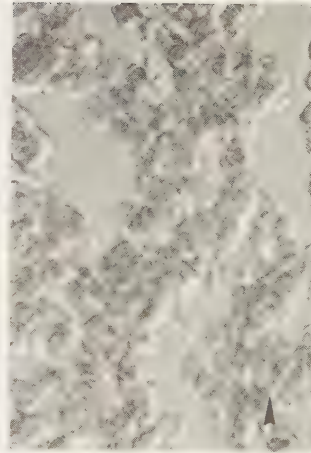
Stop ohne vorherige Scherung



maximale Scherung $\gamma = 1100 \text{ sec}^{-1}$

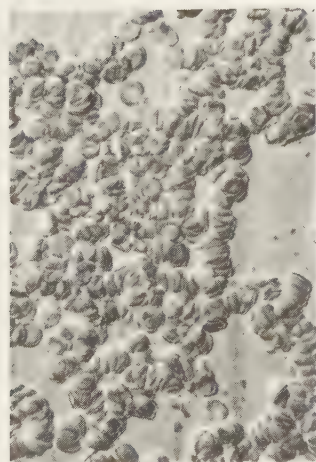


Stop nach maximaler Scherung

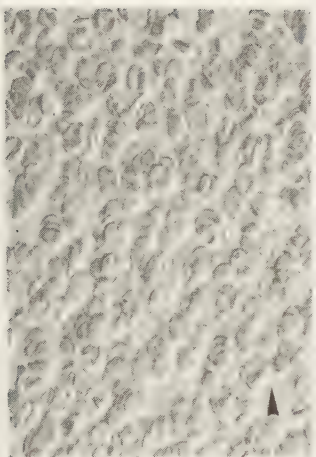


minimale Scherung $\gamma = 22 \text{ sec}^{-1}$

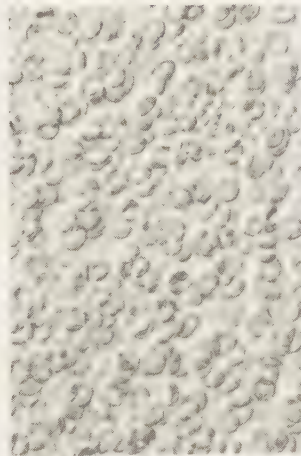
Abb. 16: Verhalten von Agglutinaten aus Zellen der Blutgruppe B im Plasma der Gruppe O in viskosimetrischer Strömung bei verschiedenen Schergraden. Antikörpertiter im Plasma O: Anti B: 1:512 ; $\blacktriangle$ Strömungsrichtung.



Stop ohne vorherige Scherung



maximale Scherung $\dot{\gamma} = 510 \text{ sec}^{-1}$

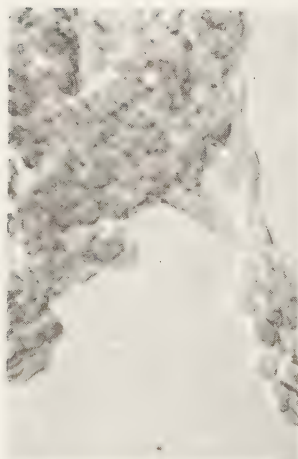


Stop nach maximaler Scherung

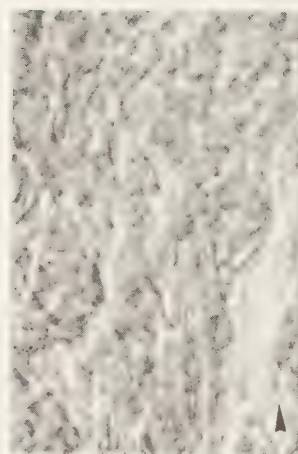


minimale Scherung $\dot{\gamma} = 11 \text{ sec}^{-1}$

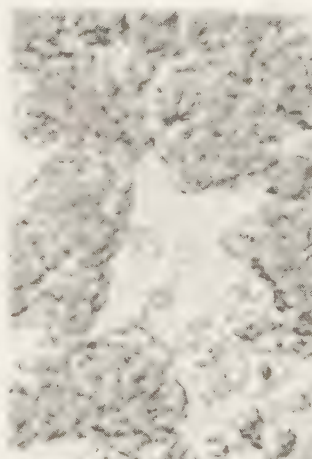
Abb. 17: Verhalten von Agglutinaten aus Zellen der Blutgruppe B im Plasma der Gruppe O in viskometrischer Strömung bei verschiedenen Schergraden. Antikörpertiter im Plasma O: Anti B: 1:64 ; $\blacktriangleright$ Strömungsrichtung.



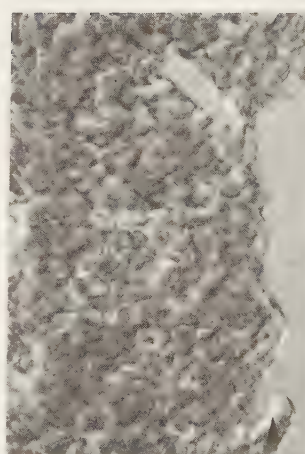
Stop ohne vorherige Scherung



maximale Scherung $\gamma = 850 \text{ sec}^{-1}$

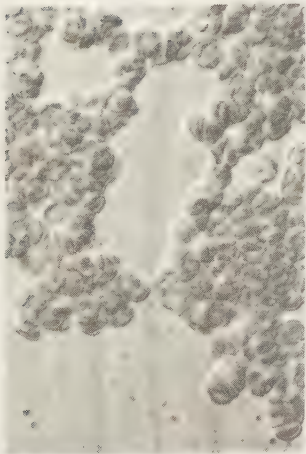


Stop nach maximaler Scherung

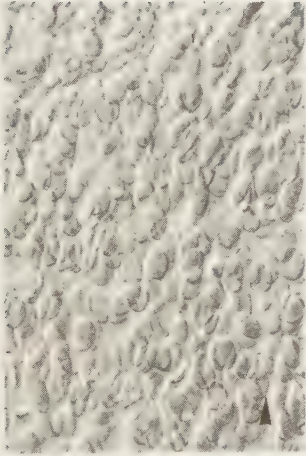


minimale Scherung $\gamma = 16 \text{ sec}^{-1}$

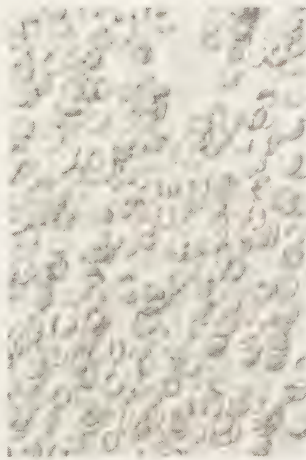
Abb. 18: Verhalten von Agglutinaten aus Zellen der Blutgruppe AB im Plasma der Gruppe O in viskosimetrischer Strömung bei verschiedenen Schergraden. Antikörpertiter im Plasma O: Anti A: 1:4096, Anti B: 1:512 ;
 ▲ Strömungsrichtung.



Stop ohne vorherige Scherung



maximale Scherung $\dot{\gamma} = 470 \text{ sec}^{-1}$



Stop nach maximaler Scherung



minimale Scherung $\dot{\gamma} = 9 \text{ sec}^{-1}$

Abb. 19: Verhalten von Agglutinaten aus Zellen der Blutgruppe AB im Plasma der Gruppe O in viskosimetrischer Strömung bei verschiedenen Schergraden. Antikörpertiter im Plasma O: Anti A: 1:512, Anti B: 1:64 ;
 ▲ Strömungsrichtung.

5. Diskussion

Die Agglutination, d. h. die Verklebung von Erythrozyten durch Antikörper, stellt eine Form der Zellkohäsion dar, die sich in wesentlichen Details von der Erythrozytenaggregation unterscheidet. Unter Aggregation versteht man die reversible Bindung von Erythrozyten durch im normalen Plasma vorkommende Makromoleküle, wie z.B. das Fibrinogen, das α_2 -Makroglobulin und das IgM. Vergleicht man die beiden Formen der Zellverklumpung, so ergeben sich nicht nur Unterschiede, sondern auch eine Reihe von bisher nicht gekannten Übereinstimmungen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich daher wie folgt zusammenfassen:

1. Die Aggregation wie die Agglutination treten bei geringen Schergraden am ausgeprägtesten auf, die Agglutinate zeigen schon bei mittleren Strömungskräften eine starke Tendenz, während der Strömung fortlaufend zuzunehmen.
2. Sowohl die Agglutination als auch die Aggregation sind im Prinzip reversibel, d.h. sie können durch den Einsatz hoher hydrodynamischer Kräfte wieder dispergiert werden.

3. Die Verformbarkeit einzelner Erythrozyten wird durch den Besatz ihrer Oberfläche mit Isoantikörpern nicht nachweisbar beeinflusst.
4. Die Konzentration der Antikörper in den Blutproben beeinflusst die Agglutinationsreaktion.
5. Durch die Anwesenheit von Fibrinogen wird die Agglutination von Erythrozyten signifikant verstärkt.
6. Der Hämatokritwert hat einen hohen Einfluß auf das rheologische Verhalten von Erythrozytenagglutinaten, was mechanische aber auch chemische Gründe hat.
Im folgenden sollen nun die einzelnen Ergebnisse noch einmal gesondert erörtert werden.
Es ist allgemein bekannt, daß die Aggregatbildung bei sehr niedrigen Schergraden und vor allem in Stase stattfindet. Das ist auch bei der pathologisch verstärkten Aggregation der Fall, von der man weiß, daß sich bei ihr die Aggregate unter den gleichen Strömungsbedingungen bedeutend stärker ausbilden (27, 50, 54).
Hierfür seien als Beispiel die von GALLASCH durchgeführten Aggregationsversuche mit isolierten Serumproteinen erwähnt (20). In Abhängigkeit vom verwendeten Serumprotein und dessen Konzentration in der Blutprobe zeigt sich eine unterschiedlich gesteigerte Aggregation der Erythrozyten.

Sie wurde durch Zugabe von α_2 -Makroglobulin vor allem bei mittleren Schergraden induziert, wobei sich typische Erythrozytenklumpen ausbildeten. Bei Versuchen mit IgM und Fibrinogen trat hingegen in Stase die ausgeprägtere Aggregation auf, die charakteristische Rouleauxbildung zeigte. Bei mittleren Schergraden ($50-150 \text{ sec}^{-1}$) wurden diese Geldrollennetze dispergiert. (20).

Ein sehr ähnliches Fließverhalten lassen die Untersuchungen mit agglutinierenden Blutproben erkennen. Es zeigt sich bei vielen Versuchen, vor allem bei Suspension von Erythrozyten im Plasma der Gruppe O, eine starke Tendenz zur fortlaufenden Agglutinatvergrößerung bei Schergraden bis 20 sec^{-1} . Die Klumpenbildung in Stase ist nicht im selben Maße verstärkt. Niedrige Scherkräfte dispergieren somit die Agglutinate nicht, sondern induzieren vielmehr ihre verstärkte Bildung.

Bei einem Teil der Versuche in Plasma und Serum ist die Agglutination in Stase stärker ausgeprägt als unter Scherung. Bei mittleren Schergraden sind jedoch noch ausgeprägte Klumpen nachweisbar, im Gegensatz zur normalen Aggregation, die bei gleichgroßen Scherkräften eine fast vollständige Dispersion zeigt (32). Schwache Scherströmungen fördern also das Auftreten von Agglutinaten und deren Größenzunahme. In drei Fällen

der vorliegenden Studie war die Klumpenbildung bei $\dot{\gamma} = 25 \text{ sec}^{-1}$ sogar noch ausgeprägter als bei minimalem Schergrad $\dot{\gamma} = 7 \text{ sec}^{-1}$. Den Agglutinaten, die sich bei 7 sec^{-1} bildeten, fehlte offensichtlich die ausreichende Strömung, damit sich die vielen kleinen Klumpen zu größeren Konglomeraten zusammenschließen konnten.

In allen Blutgruppenlabors wird von dem Strömungsverhalten der Agglutinate Gebrauch gemacht. Bei jeder Blutgruppenbestimmung findet sozusagen unbewußt ein rheologischer Versuch im Kleinen statt. Vor dem Ablesen der angesetzten Blutgruppengemische werden diese durchgemischt. Dabei dürften kleine Scherkräfte auftreten, die quantitativ schwer abzuschätzen sind. Ganz offenbar reichen sie jedoch, wie oben ausgeführt, gerade zur verstärkten Klumpenbildung der Agglutinate. Für die nachfolgende Beurteilung der Testansätze schafft man hier unbewußt durch die Berücksichtigung des speziellen Fließverhaltens der Agglutinate die idealen Voraussetzungen.

In vivo findet man ähnlich geringe Scherkräfte in der Mikrozirkulation, v.a. im Bereich der Venolen vor. Es dürften sich also dort bei einer eventuellen intravasalen Agglutination nach Transfusionsfehlern bevorzugt Klumpen ausbilden, die zu einer erheblichen Beeinträchtigung des Kreislaufes führen können. Besondere Aufmerksamkeit schenkt man heute bei Transfusions-

zwischenfällen der hämolytischen Reaktion mit Nierenfunktionsstörung. Die Mikrozirkulationsstörungen der verschiedenen Organe, z.B. der Niere und die sich daraus ergebenden Folgestörungen haben bisher noch nicht die ihnen zustehende Beachtung gefunden. Hier eröffnet sich ein weites Feld für neue Untersuchungen. Welche Unterschiede ergaben sich bei den Untersuchungen zwischen pathologischen Aggregaten und den Agglutinationen?

Die durch verschiedene Kolloide, wie Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin oder Immunglobulin IgM, aber auch Dextrane oder Gelatine ausgelöste Aggregation führt einerseits zur Bildung von Rouleaux-Netzen, jedoch andererseits bei hoher Kolloidkonzentration zur Ausbildung von Zellklumpen (9, 20, 27, 62). Die Aggregation von Erythrozyten geschieht hierbei durch Parallelanlagerung zweier benachbarter Zellmembranen (11). Deren Abstand hängt von der Länge der verknüpfenden Brückenmoleküle ab (11, 30). Diese werden an die sich gegenüberliegenden Zellen adsorbiert und gehen dort offenbar unspezifische Bindungen ein. Die Stärke der Zellaggregation hängt weiterhin von der Konzentration und der Größe der Makromoleküle ab (9, 10). Durch Senkung des ζ -Potentials durch Einwirkung der Neuraminidase kann die Aggregationswirkung der Brückenbildner noch verstärkt werden (23, 29, 41, 45).

Wie Aggregate im gesunden Blut sind auch die pathologisch verstärkten Aggregate bzw. die durch in vitro zugegebene Makromoleküle produzierten Aggregate durch Einsatz hoher Schubspannungen prinzipiell zerscherbar, wobei nach Neuraminidase-Behandlung allerdings höhere Scherkräfte notwendig sind als bei nicht vorbehandelten Blutproben. SCHMID-SCHÖNBEIN (50) berichtet über Versuche, bei denen durch α_2 -Makroglobulin induzierte Aggregate so scherresistent waren, daß sie bei Schergraden bis 900 sec^{-1} nicht vollständig dispergiert werden konnten ($\dot{\gamma}_{\text{Tmin}} 900 \text{ sec}^{-1}$).

Im Gegensatz zu den unspezifischen Bindungen bei der Aggregation besteht bei der Antigen - Antikörperreaktion eine spezifische Bindung an genau definierten Rezeptoren. Bei unseren Überlegungen gingen wir nun davon aus, daß diese spezifischen Bindungen der Scherung stärker als die unspezifischen Bindungen widerstehen könnten, wobei die Agglutinate nicht oder nur sehr schwer zu dispergieren seien, und daß mit den verwendeten Apparaturen die hierfür erforderlichen Schubspannungen nur unzureichend aufgebracht werden könnten.

Überraschenderweise waren die Agglutinate jedoch relativ leicht zerscherbar, d.h. ein $\dot{\gamma}_{\text{Tmin}}$ in der Größenordnung zwischen 300 und 500 sec^{-1} war meßbar. Die hierfür erforderlichen Scherkräfte sind bis auf 5 Ausnahmefälle nicht höher als diejenigen, die man zur Dispersion von pathologisch gesteigerter Aggregation benötigt (20, 62). In der vorliegenden Studie gelang es

abgesehen von zwei Versuchen stets, die Agglutinate hydrodynamisch zu zerschneiden. Die Tatsache, daß sich die Agglutinate tatsächlich mechanisch dispergieren lassen, spiegelt sich auch in der scheinbaren Viskosität von agglutinierenden Blutproben in der Scherströmung wider. Die sich bei niedrigen Schergraden ausbildenden Agglutinate führen zu einem Anstieg der Viskosität, vor allem durch die Immobilisierung von zwischen den Klumpen eingeschlossenem Plasma (8), sowie durch Behinderung der normalen Strömungsanpassung einzelner Erythrozyten. In unseren Experimenten fand jedoch auch bei Erythrozyten in nicht kompatiblen Seren und Plasmen bei höheren Schergraden offenbar eine Dispersion der Agglutinate statt, wodurch freies Plasma zur Verfügung stand und die Einzelzellen sich außerdem der Strömung anpassen konnten. So erklärt sich die überraschend niedrige scheinbare Viskosität der Proben, welche sich dem Viskositätswert der Kontrollen annähert. (s. Abb. 8) Die Beobachtung, photometrische Aggregometrie und Viskosimetrie der Proben führen so unabhängig voneinander zu dem Ergebnis, daß agglutinierte Erythrozyten nicht fester miteinander verknüpft sind als Zellen unter pathologischer Aggregationssteigerung. Prinzipiell lassen sich Aggregate wie auch Agglutinate in vitro zerschneiden, wenn nur die einwirkenden Scherkräfte in Verbindung mit der elektrischen Abstoßung der Zellen größer sind als die unspezifischen oder spezifischen Bindungskräfte zwischen den Zellen (11).

Die niedrigen Viskositätswerte gestatten des weiteren eine Aussage über die Verformbarkeit der antikörperbeladenen Erythrozyten. Es war die Frage zu klären, ob die Antikörper in irgendeiner Weise die Zellmembran versteifen. Daraus würde eine eingeschränkte "Panzerkettenrotation" (18, 46) der Membran um den Zellinhalt mit verändertem Fließverhalten resultieren, das sich besonders deutlich im Viskosimeter quantifizieren läßt. So fanden verschiedene Autoren (6, 7, 46) bei Untersuchungen mit fixierten Erythrozyten einen sehr starken Viskositätsanstieg der Proben mit zunehmendem Schergrad, und in Abhängigkeit von der Zeit. Die von diesen Autoren gemessenen Viskositätswerte liegen um ein Vielfaches über den Werten der eigenen Versuche. Unsere Viskositätsmessungen sprechen somit eindeutig dafür, daß die agglutinierten Zellen nicht rigide werden. Den besten Nachweis hierfür liefert letzten Endes deren direkte Beobachtung und photographische Dokumentation am Rheoskop. Die Abb. 2, 12 lassen deutlich die Elongation der Zellen in der Strömung erkennen. Auch die Agglutinate richten sich aus. Die Rotation der Membran um den Zellinhalt konnte beobachtet werden. Somit ist offenkundig, daß die Besetzung der Zelloberfläche mit Antikörpern keine stärkere Beeinträchtigung der Erythrozytenfluidität bewirkt.

Der Zusammenhalt von Agglutinaten ist von unterschiedlicher Stärke. Gealterte Zellen, deren ζ -Potential kleiner ist als dasjenige junger Zellen, binden offenbar die Antikörper stärker (12). Auch die wechselnden Konzentrationen bestimmter agglutinationsfördernder Plasmabestandteile in den Proben beeinflussen die Widerstandskraft der Klumpen in der Strömung. Sie tragen mit bei zur Streuung der Ergebnisse über einen weiten Meßbereich.

Wie in Kapitel 2.2 erwähnt, fanden verschiedene Autoren (1, 28, 58), daß im Plasma der Blutgruppe O mehr Antikörper Anti A und Anti B enthalten sind als im Plasma der Gruppen B und A. Zudem fanden sie gehäuft einen höheren Titer Anti A als Anti B, sowohl im Plasma Gruppe O, als auch beim Vergleich zwischen den Gruppen B und A.

Auch bei den oben angeführten Versuchen zeigten die Blutgemische, bei denen Plasma oder Serum der Gruppe O verwendet wurde, die ausgeprägtesten Befunde, sowohl beim FSAR-Quotienten, als auch in der Veränderung der Viskosität des Blutes bei niedrigen oder hohen Schergraden. Aus den Viskositätswerten, (s. Abb. 9, 10, 11) bei verschiedenen Schergraden ist deutlich zu erkennen, daß im Plasma O, in dem sowohl Anti A als auch Anti B enthalten sind, die Proben mit den Zellen der Gruppe AB die höchsten Viskositäten zeigen. Hier können sowohl

die Antikörper Anti A als auch Anti B an ihren jeweiligen Antigenplätzen angreifen und sich in ihrer agglutinierenden Wirkung addieren.

Auch aus den Tabellen (1,2 u. 3) lassen sich die unterschiedlich starken Reaktionen bei den verschiedenen Blutgruppen erkennen. Überschneidungen bei Meßergebnissen (s. Abb. 8) liegen im Meßfehlerbereich des Viskosimeters. Im Gegensatz zu den Versuchen im Aggregometer sind die Viskositätswerte von Zellsuspensionen im Plasma der Gruppe A größer als die im Plasma der Gruppe B; dieser Befund beruht möglicherweise auf der von Proband zu Proband schwankenden Zahl der Antikörper bzw. der Antigenplätze auf den Erythrozyten. (s. Kapitel 2) Hier können weitere Untersuchungen zur Klärung der Widersprüchlichkeiten beitragen. Die zwei Versuche mit dem Plasma der Spenderin Gruppe O, bei der sich möglicherweise abnorme "Immun-Antikörper" Anti-A im Blut befinden, zeigen deutlich höhere Viskositätswerte mit Zellen der Gruppe A und AB als vergleichbare Untersuchungen. Die Mischung mit Zellen der Gruppe B zeigt hingegen relative Viskositäten wie alle anderen Versuche Plasma O/Zellen B. Der Zusammenhalt der Klumpen war bei höheren Schergraden mit Zellen der Gruppen A und AB bedeutend stärker als mit Zellen der Gruppe B (s. Abb. 14). Jedoch ist auch bei diesen fest haftenden Klumpen eine Verformung der Zellen sichtbar. Die auf den Bildern festgehaltenen

Befunde zeigen somit ebenfalls deutlich, daß es bei normal hohem Antikörpertiter möglich ist, Agglutinate zu zerschneiden. Bei gesteigerter Agglutination sind die Klumpen bei etwa gleichem Schergrad noch fest verbacken, zeigen eine Streckung in der Strömung, jedoch noch keine Auftrennung in viele Einzelklumpen oder Einzelzellen. Mit höheren Schubspannungen als im verwendeten Apparat erreichbar, sollte es auch hier möglich sein, die Klumpen zu zerschneiden. Dasselbe Ergebnis zeigen die Verdünnungsversuche (s.S.35), bei denen die Anzahl der Antikörper in den Blutproben reduziert wird. Für gleich viele Zellen stehen dann bedeutend weniger Antikörper zur Reaktion zur Verfügung, was dazu führt, daß unterhalb einer bestimmten Verdünnungsstufe keine meßbare Klumpung mehr stattfindet. Die Bedeutung der Immunreaktion für die Klumpenbildung und für die Stärke der Scherresistenz ist letztendlich auch aus der Tatsache ersichtlich, daß die Kontrollproben, das sind alle Proben ohne Antigen-Antikörperreaktion, der Zerschneidung einen wesentlich geringeren Widerstand entgegenzusetzen als die inkompatiblen Mischungen. Ihre scheinbare Viskosität erreicht nie die hohen Werte der agglutinierenden Proben.

Das Verhalten der Agglutinate in der Scherströmung hängt nicht allein von der Stärke und Anzahl der Antigen-Antikörperreaktionen ab. Daß andere Faktoren eine Rolle

spielen, wird deutlich, wenn man die mit Plasma und Serum gewonnenen Resultate vergleicht. Im Serum war die Orientierung der Zellen mit viel geringeren Scherkräften zu erreichen als im Plasma. Das Fibrinogen, das ja im Serum fehlt, ist, wie andere Autoren fanden (8, 9, 27, 37, 54), für den mechanischen Zusammenhalt der Aggregate, mehr noch für ihre Bildungsgeschwindigkeit, von großer Bedeutung. Dies sei hier anhand von Versuchen bei Blutproben mit steigender Fibrinogenkonzentration dargestellt. Die Ergebnisse wurden mir freundlicherweise von v. HUGO und SCHMID-SCHÖNBEIN zur Verfügung gestellt.

(Tab. 9)

FIBRINOGEN (mg%)	η [158sec ⁻¹]	$\dot{\gamma}_{Tmin}$	$t_{1/2}$	
500	4.03 ±0.28	110.5 ±36.8	3.36 ±0.83	S.D
1000	5.22 ±0.95	422.5 ±74.3	1.27 ±0.37	S.D
1500	7.54 ±0.02	441.0 ±42.5	0.66 ±0.17	S.D

Tab. 9:

Einfluß unterschiedlicher Fibrinogenkonzentrationen auf die Viskosität (η), den Schergrad mit minimaler Lichttransmission ($\dot{\gamma}_{Tmin}$) und die Halbwertszeit ($t/2$) der Aggregation; Htc 45 %.

Bei diesen Versuchen wurde chromatographisch reines Fibrinogen verwendet, das nach der Methode von BLOMBAECK aufbereitet worden war. Wie an den Meß-ergebnissen abzulesen ist, gelingt es auch bei sehr hohen Fibrinogenkonzentrationen (vergleichbar mit maximalen in vivo Werten, wie sie z.B. bei Cholera gemessen werden können), die Dispersion von stark aggregierten Zellen zu erreichen. Es sind hierzu jedoch sehr hohe Scherkräfte notwendig. Die scheinbare relative Viskosität $\frac{\eta_{app}}{\eta}$ Plasma der Proben steigt in Abhängigkeit von der Fibrinogenkonzentration, sie zeigt eine beeinträchtigte Anpassung der Erythrozyten an die Strömung. Deutlich sichtbar ist auch die Zunahme der Bildungsgeschwindigkeit der Aggregate mit steigender Konzentration des Proteins, das, wie auch die eigenen Versuche zeigen, ein sehr entscheidender Faktor für die Zusammenlagerung der Agglutinate zu sein scheint. Aus der Berechnung der Halbwertszeit $t/2$, läßt sich somit erkennen, daß das Fibrinogen -im Gegensatz zur Immunreaktion- eine signifikante Beschleunigung der spontanen Klumpenbildung von Erythrozyten im Plasma in Stase hervorruft.

Die Bedeutung des Fibrinogens für das Agglutinationsverhalten läßt sich des weiteren aus den Abb. 4 und 5 erkennen. Die Klumpung war im Plasma sowohl bei minimalem Schergrad, als auch in Stase wesentlich ausgeprägter als im Serum. Hier wird gleichzeitig deutlich, daß die Agglutination durch die Anwesenheit von Fibrinogen

nur verstärkt, nicht aber grundsätzlich verändert wird. Das läßt sich aus dem Relativquotienten FSAR für Plasma und Serum ablesen. Mit Hilfe dieses Quotienten läßt sich feststellen, ob langsame Sche-
 rung (bei 7 sec^{-1}) Zellaggregation bzw. -agglutination induziert ($\text{FSAR} > 1,0$) oder dispergiert ($\text{FSAR} < 1,0$). Der FSAR Quotient läßt jedoch keine Aussage über das absolute Agglutinationsverhalten von Blutproben zu. Es ist zu hoffen, daß die Messung der tatsächlichen Agglutinationsneigung in Strömung einmal durch das Herausarbeiten neuer Bezugsgrößen realisiert werden kann.

Andere im Blut vorkommende Makromoleküle, nämlich das α_2 -Makroglobulin und das γ -Globulin IgM sind auf ihre Aggregationswirkung bereits quantitativ untersucht worden (20, 50). Da sie aber sowohl im Plasma als auch im Serum vorkommen, können sie für die unterschiedlichen Befunde zwischen den beiden Proben eines Spenders nicht verantwortlich sein. Ihre von Blutspender zu Blutspender wechselnde Konzentration im Blut ist sicher mit dafür verantwortlich, daß die vorliegenden Versuchsergebnisse über einen weiten Meßbereich streuen. Wie sich die verschiedene Konzentration der einzelnen Proteinklassen auswirken kann, sei aus der Tatsache ersichtlich, daß ihre Aggregationswirkung unterschiedlich ausgeprägt ist. So soll nach MOLLISON (38) das Fibrinogen die Aggregation 6mal

stärker als das γ -Globulin fördern. Nach CHIEN (8) entsprechen in ihrer Aggregationswirkung alle Serumglobuline zusammen etwa der des Fibrinogens. Unterhalb einer Minimalkonzentration der verschiedenen zur Klumpung führenden Plasmabestandteile ist keine Agglutination mehr meßbar; dies zeigen die Ergebnisse der Verdünnungsversuche. Es zeigt sich dann selbst bei minimaler Strömung keine Agglutination mehr.

FAHREUS (17) fand bei seinen Untersuchungen, daß Erythrozyten in isotonischer Salzlösung monodispers vorliegen. Diese Ergebnisse entsprechen den von SCHMID-SCHÖNBEIN (49) durchgeführten Verdünnungsversuchen mit normal aggregierenden Blutproben.

Bei Senkung der Konzentration der Plasmaproteine auf 25 % des Ausgangswertes stellte auch er keine Aggregation mehr fest. Menschliche Erythrozyten sind also bei Verdünnung ihres Plasmamilieus unterhalb einer gewissen Plasmaproteinkonzentration nicht mehr zur Aggregation zu bringen. Ihr Verhalten ähnelt dann demjenigen der Rindererythrozyten, die bekanntermaßen überhaupt nicht aggregieren. Die Zellen können sich unter diesen Umständen in der Strömung in Abhängigkeit vom Schergrad nur mehr oder weniger stark orientieren bzw. deformieren (32). Dementsprechend steigt in solchen Suspensionen die Lichttransmission, ausgehend von einem Minimum in Stase, mit zunehmendem Schergrad monoton an, d.h. der für Vollblut typische biphasische Verlauf der Lichttransmission bei Ände-

rung der Schergrade zwischen 7 und 460 sec^{-1} mit
 einem Minimalwert bei $\dot{\gamma}_{\text{Tmin}}$ geht verloren.
 Durch eine Änderung des Hämatokritwertes ließ sich
 eine Verschiebung des Verhältnisses von Zellober-
 fläche zu agglutinationsfördernden Proteinen er-
 reichen.

Im Aggregometer zeigten die Agglutinate bei Htc
 45 % stets eine höhere Scherresistenz als bei Htc
 60 %. Hierbei ist das Verhältnis von Antikörpern
 zu vorhandenen Antigenen von Bedeutung, was beson-
 ders bei Serumproben offenkundig wird. In einem Blut-
 gemisch mit einem Hämatokritwert von 60 % stehen für
 mehr Zellen weniger Antikörper zur Verfügung, um eine
 Immunreaktion hervorzurufen, als bei einem Hämatokrit-
 wert von 45 %. Daher besteht die Möglichkeit, daß die
 Agglutination der Zellen nicht in demselben Maß von-
 staten geht, wie es bei einem Hämatokritwert von
 45 % geschieht. Es ist ohne weiteres denkbar, daß die
 durch weniger Antikörper zusammengehaltenen Aggluti-
 nate den Scherkräften in der Strömung weniger Wider-
 stand entgegensetzen können und daher leichter disper-
 giert werden. In all den Fällen, bei denen im Aggrego-
 meter ein $\dot{\gamma}_{\text{Tmin}}$ zu messen war, war der zur Desorientie-
 rung einer Probe mit Hämatokritwert von 60 % notwen-
 dige Schergrad stets deutlich kleiner als derjenige
 bei einer Probe mit einem Hämatokritwert von 45 %.
 Vergleichbare Resultate erzielten SCHMID-SCHÖNBEIN
 et al (49) bei entsprechenden Versuchen mit

aggregierenden Blutproben. Bei hohem Hämatokritwert sind die Zellen so dicht gepackt, daß sie sich schon im Strömungsstillstand deformieren. Daher genügen hier schon geringere Schergrade als bei niedrigerem Hämatokritwert, um die Zellen noch weiter zu deformieren und dabei in der Strömung auszurichten, folglich wird der $\dot{\gamma}_{Tmin}$ schon bei kleineren Werten erreicht.

In mehreren Fällen mit sehr starker Agglutination konnte mit der verwendeten Meßmethode der Schergrad mit minimaler Lichttransmission nicht ermittelt werden. Die Lichttransmission sank in solchen Fällen ständig mit zunehmendem Schergrad und erreichte im Meßbereich des Instruments noch keinen Minimalwert ($\dot{\gamma}_{Tmin} > 460 \text{ sec}^{-1}$). Hier muß offen bleiben, ob Zellsuspensionen mit 45 % oder 60 % Hämatokritwert sich eher vollständig desorientieren lassen. Es ist jedoch aufgrund der Vielzahl der Ergebnisse zu vermuten, daß auch hier der $\dot{\gamma}_{Tmin}$ bei Hämatokritwert 60 % kleiner ist als der bei 45 %.

Bei keinem der durchgeführten Versuche war es möglich, zu unterscheiden, welcher Anteil der gemessenen Reaktionen auf die reine Agglutination, und welcher auf Aggregationsvorgänge entfiel. Die Verwendung verschiedener Antikörper, z.B. inkompletter Antikörper könnte hier wichtige Erkenntnisse bringen.

Die Agglutinationsreaktion ließe sich weiterhin differenzierter bewerten, wenn gezielt aggregationsfördernde Plasmaproteine den Proben zugesetzt oder entzogen würden. Hier seien vor allem das Fibrinogen, das α_2 -Makroglobulin und das IgM genannt, deren Wirkung bei der Aggregation ja schon untersucht wurden (8, 20, 27, 50, 54). Das hier erwähnte IgM ist nicht gleichbedeutend mit dem Isoantikörper IgM. Das IgM fördert grundsätzlich die Aggregation der Erythrozyten auch ohne Immunreaktion. Mit diesen und anderen Methoden mag es möglich sein, weitere Erkenntnisse über die spezifischen Agglutinationsvorgänge zu erforschen.

Das Strömungsverhalten antikörperbeladener Zellen hätte aber auch noch anderweitig beeinflusst werden können. Bekanntlich sind die Erythrozyten an ihrer Oberfläche von einem adsorbierten Plasma-Proteinfilm umgeben (39, 40). Es stellte sich bei den durchgeführten Versuchen die Frage, ob das Vorhandensein oder das Fehlen des eigenen Proteinfilms eine Veränderung im Fließverhalten der Zellen bzw. Aggregate und Agglutinate hervorruft. Beim Vergleich der entsprechenden Parameter ($FSAR$, δ_{Tmin} , $T/2$) von Proben mit gewaschenen und ungewaschenen Zellen fanden sich keine Unterschiede. Es scheint für die agglutinierten Zellen in der Strömung also keine Rolle zu spielen, ob

um sie der ursprüngliche Proteinfilm oder der im fremden Plasma erworbene Proteinfilm lagert.

6. Zusammenfassung

Die Untersuchung über das Verhalten von Agglutinaten in der Strömung führte zu dem Ergebnis, daß sie sich als eine Spezialform der Aggregation bezeichnen läßt, die für sie spezifische Eigenschaften aufweist.

1. Die Agglutinate zeigen eine sehr starke Neigung zur Größenzunahme in der Strömung bei niederen Schergraden und in Stase. Es ließen sich Schergrade bestimmen, die die Agglutinatbildung besonders fördern. Auch in der Mikrozirkulation, z.B. im Bereich der Venolen sind solche niedrigen Schergrade denkbar und könnten dort im geeigneten Fall zur verstärkten Ausbildung von Agglutinaten mit den sich daraus ergebenden Konsequenzen für den Gesamtkreislauf führen.
2. Setzt man die Agglutinate hohen Scherkräften aus, so gelingt es, die Klumpen zu dispergieren, woraus deutlich wird, daß der Vorgang der Agglutination reversibel ist.
3. Die Stärke des Zusammenhaltens der antikörperbeladenen Erythrozyten hängt von der Antikörperkonzentration in der Blutprobe ab. Auch scheint von Bedeutung zu sein, ob es sich bei den Antikörpern um ein-

fache Isoantikörper oder um mögliche Immun-Isoantikörper handelt. Es ließen sich beim Vergleich von Blutproben verschiedener Blutgruppen unterschiedlich starke Agglutinationsreaktionen beobachten, wobei deren unterschiedlich starke Antikörperkonzentration eine Rolle zu spielen scheint.

4. Die Anwesenheit von Fibrinogen in der Blutprobe bewirkt eine wesentliche Verstärkung der durch spezifische Isoantikörper ausgelösten Klumpung und vor allem eine Erhöhung der Bildungsgeschwindigkeit von Agglutinaten. Der Einfluß des Fibrinogens auf die Agglutination scheint genauso bedeutsam zu sein wie seine Bedeutung für die Erythrozytenaggregation. Die mögliche Wirkung anderer Plasmaproteine für die Agglutination wird erörtert.
5. Ebenso wie bei der Aggregation ist bei der Agglutination der Hämatokritwert der Blutproben für deren Strömungsverhalten von hoher Wichtigkeit. Dies beruht einerseits auf mechanischen, andererseits auf chemischen Gründen.
6. Die durch verschiedene Meßmethoden gewonnenen Werte bei Versuchen mit gewaschenen und ungewaschenen Zellen ergeben keinen Hinweis dafür, daß der eigene Plasmaproteinfilm an der Erythrozytenmembran der

agglutinierten Zellen auf deren Strömungsverhalten einen meßbaren Einfluß besitzt.

7. Überraschenderweise wird durch die Beladung der Antigenplätze der Zellmembran durch Antikörper die Verformbarkeit der einzelnen Erythrozyten nicht nachweisbar verändert. Auch im Verband eines Agglutinates ist eine Elongation der Zellen in der Strömung sichtbar.
8. Die eigenen Meßergebnisse werden mit den Aggregationsmessungen anderer Autoren verglichen. Es zeigen sich deutliche Unterschiede der Agglutination zur normalen Aggregation, jedoch Überraschend viele Gemeinsamkeiten mit der pathologisch verstärkten Aggregation.

7 Literaturverzeichnis

1. AUBERT, E.F., BOORMAN, KATHLEEN E., DODD, BARBARA E. and LOUIT, J.F.:
The universal donor with high titre iso-agglutinins;
the effect of anti-A iso-agglutinins on recipients of group A
Brit.med. J. 1., 659 (1942)
2. BENDIEN, W.M., NEUBERG, J. und SNAPPER J.:
Beitrag zur Theorie der Senkungsgeschwindigkeit der roten
Blutkörperchen.
Biochem. Z. 247, 307 (1932)
3. BOYSE, E.A., OLD, L.J. and STOCKERT, ELISABETH:
An approach of the mapping of antigens on the cell surface
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 60, 886 (1968)
4. BROOKS, D.E. and SEAMAN G.V.:
Some Effects of Dextran on Human Erythrocyte Interactions
Bibl. Anat. 11, 272-280 (1973)
5. BRUCHSALER, S.:
Über Beziehung der Blutkörperchen Senkungsgeschwindigkeit und dem
Fibrinogengehalt des Blutes.
Zentralbl. f. Gynaekologie 32, 2010 (1927)
6. CHIEN, S., DELLENBACK, R.J. and GREGERSEN, M.J.:
Blood viscosity: Influence of erythrocyte deformation
Science 157, 827 (1967)
7. CHIEN, S., DELLENBACK, R.J., USAMI, S., SEAMAN, G.V.F. and
GREGERSEN, M.J.:
Centrifugal packing of suspensions of erythrocytes hardened
with acetaldehyde
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 982 (1968)

8. CHIEN, S., USAMI, S., DELLENBACK, R.J. and
GREGERSEN, M.J.:
Shear-dependent interaction of plasma proteins with
erythrocytes in blood rheology
Am. J. Physiol. 219, 143-153 (1970)

9. CHIEN, S., JAN, K.-M., USAMI, S., LUSE, S. A., MILLER, L.H.
and FREMOUNT, H.:
Effects of macromolecules on the rheology and ultrastructure
of red cell suspensions.
Proc. 6th Europ. Conf. Microcirculation, pp. 29-34
(Karger, Basel/New York 1971)

10. CHIEN, S.:
Electrochemical Interactions between Erythrocyte Surfaces
Thrombosis Research Suppl. II, 8, 189 (1976)

11. CHIEN, S.:
Electrochemical and Ultrastructural Aspects of Red Cell
Aggregation
Bibl. anat., No. 11, 244 (1973)

12. DANON, D.:
Agglutination of Red Blood Cells by Polyelectrolytes and
Antibodies
Bibl. anat. 11, 289-295 (1973)

13. DINTENFASS, L.:
Internal Viscosity of the Red Cell and a Blood Viscosity
Equation
Nature 219, 956 (1968)

14. DOBSON, AILEEN and IKIN, ELIZABETH W.:
The ABO blood groups in the United Kingdom:
frequencies based on a very large sample
J. Path. Bact. 58, 221 (1946)

15. ECONOMIDOU, JOANNA, HUGHES-JONES, N.C. and GARDNER, BRIGITTE
Quantitative measurements concerning A and B antigen sites
Vox Sang. 12, 321 (1967)

16. ERVIN, D.M. and YOUNG, L.E.:
Dangerous universal donors. I. Observations on destruction of
recipient's A cells after transfusion of group O blood
containing high titer of A antibodies of immune type not easily
neutralizable by soluble A substance
Blood, 5, 61 (1950)

17. FAHRAEUS, R.:
Suspension-stability of the blood
Acta Med. Scand. 55 1-228 (1921)

18. FISCHER, TH. and SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
Tank tread motion of red cell membranes in viscometric flow:
Behavior of intracellular and extracellular markers
Blood cells 3 (1977) im Druck

19. FUDENBERG, H.H., KUNKEL, H.G. and FRANKLIN, E.C.:
High molecular weight antibodies
Acta Haemat. (Basel), Fasc. 10, 522 (1959)

20. GALLASCH, G.:
Zur rheologischen Wirksamkeit isolierter Serumproteine auf
die Erythrozyten-Aggregation
Dissertation an der Med. Fakultät der Ludwig-Maximilians
Universität München (1975)

21. GREENBURY, C.L., MOORE, D.H. and NUNN, L.A.C.:
Reaction of 7S and 19S components of immune rabbit antisera
with human group A and AB red cells
Immunology, 6, 421 (1963)

22. GREENBURY, D.L., MOORE, D.H. and NUNN, L.A.C.:
The reactions with red cells of 7S rabbit antibody, its
sub-units and their recombinants
Immunology, 8, 420 (1965)

23. GREENWALT, T.J. and STEANE, E.A.:
Quantitative Haemagglutination
IV. Effect of neuraminidase treatment on agglutination by
blood group antibodies
British J. Haematology 25, 207 (1973)

24. GREGERSEN, M.I., USAMI, S., PERIC, B., CHANG, C., SINCLAIR, D.
and CHIEN, S.:
Blood viscosity at low shear rates - Effects of low and high
molecular dextrans
Bio rheology 1, 247 (1964)

25. GROB P.J., FROMMEL, D., ISLIKER, H.C. and
MASOUREDIS, S.P.
Interaction of Ig G and its fragments with red cells
Immunology, 13, 489 (1967)

26. GRUNDBACHER, F.J.:
Changes in the human A antigen of erythrocytes with the
individual's age
Nature (Lond.), 204, 192 (1964)

27. HUGO, R. v., SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
Persönliche Mitteilung an den Autor
(unveröffentlichte Befunde)

28. ICHIKAWA, Y.:
A study of the iso-agglutinin titres in the sera of Australian
subjects (white)
Jap. J. med. Sci. Biol. 12, 1 (1959)

29. JAN, K.M. and CHIEN, S.:
 Role of Electrostatic Repulsive Force in Red Cell Interactions
 Bibl. anat., **11**, 281 (1973)

30. KATCHALSKY, A., DANON, D., NEVO, A. and DE VRIES, A.:
 Interactions of basic polyelectrolytes with the red blood cell. II. Agglutination of the red blood cells by polymeric bases.
 Biochem. biophys. Acta **33**, 120-138 (1959)

31. KEMP, T.:
 Über den Empfindlichkeitsgrad der Blutkörperchen gegenüber Isohämagglutininen im Fötalleben und im Kindesalter beim Menschen
 Acta path. microbiol. scand. **7**, 146 (1930)

32. KNISELY, M.H.:
 Intravascular erythrocyte aggregation (blood sludge).
 In: Handbook of Physiology, Sect. 2, Vol. III
 pp. 2249-2292, Ed. W.F. Hamilton and P. Dow:
 Washington D.C. (1965)

33. KLOSE, H.J., VOLGER, E., BRECHTELSBAUER, H., HEINICH, L.,
 SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
 Microrheology and Light Transmission of Blood.
 I. The Photometric Effects of Red Cell Aggregation and Red Cell Orientation.
 Pflügers Arch. **333**, 126-139 (1972)

34. KUNKEL, H.G. and ROCKEY, J.H.:
 β_2 A and other immunoglobulins in isolated anti-A antibodies
 Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), **113**, 278 (1963)

35. MÄKELÄ, O., RUOSLAHIT, E. and SEPPÄLÄ, I.J.T.:
 Affinity of IgM and IgG antibodies
 Immunochemistry, **7**, 917 (1970)

36. MATTHES, M.:
 Blutgruppen und Bluttransfusion
 In: Handbuch der Inneren Medizin 13d II/1
 Springer, Berlin, -Heidelberg, - New York (1968)

37. MERRILL, E.W., COKELET, G.C., BRITTEN, A. and WELLS, R.E.:
 Non-Newtonian Rheology of Human Blood-Effect of Fibrinogen
 Deduced by "Subtraction"
 Circulation Res., 13, 48-55 (1963)

38. MOLLISON, P.L.:
 Blood Transfusion in Clinical Medicine
 Blackwell Scientific Publications, Oxford, London,
 Edinburgh, Melbourne (1974)

39. MÜLLER, H.E. und GRAMLICH, F.:
 Die normale Zusammensetzung des Plasmaproteinfilmes
 an der Oberfläche menschlicher Erythrozyten
 Hoppe-Seylers Z. physiol. Chemie 334, 103 (1963)

40. MÜLLER, H.E. und GRAMLICH, F.:
 Über den Plasmaproteinfilm an der Oberfläche menschlicher
 Erythrozyten
 Acta haemat. 34, 239 (1965)

41. POLLACK, W.:
 Some Physicochemical Aspects of Hemagglutination
 Ann. New York Acad. Sci. 127/II, 892 (1965)

42. POLLEY, MARGARET J., ADINOLFI, M. and MOLLISON, P.L.:
 Serological characteristics of Anti-A related to type of
 antibody protein (7S γ or 19S γ)
 Vox Sang. 8, 385 (1963)

43. RACE, R.R., SANGER, R.:
Blood Groups in Man
Oxford: Blackwell 1958

44. RUHENSTROHT-BAUER, G., BRITTINGER, G., KAYSER, F.H.,
NASS, G. und TAUFEST, M.:
Der Mechanismus der Blutkörperchensenkung VII.
Mitteilung: Zur Chemie der Agglomerine
Klin. Wochr. 40, 1200 (1962)

45. SCHACHTNER, H.:
Rheologisches Verhalten enzymbehandelter Erythrozyten
Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
in der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians Universität
München (1975)

46. SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
Rheologische Eigenschaften von Erythrozyten
Habilitationsschrift an der Med. Fakultät der Ludwig-
Maximilians Universität München (1970)

47. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., WELLS, R.E., GOLDSTONE, A.:
Fluid-Drop Like Behaviour of Erythrocytes Disturbance in
Pathology and its Quantification.
Biorheology 7, 227-234 (1971)

48. SCHMID-SCHÖNBEIN, H. and WELLS, R.E.:
Rheological Properties of human Erythrocytes and their
Influence upon the "Anomalous" Viscosity of Blood
Erg. Physiol. 63, 146 (1971)

49. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., VOLGER, E. and KLOSE, H.J.:
Microrheology and light transmission of blood II. The photo-
metric quantifications of red cell aggregate formation
and dispersion in flow.
Pflügers Arch. 333, 140 (1972)

50. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., GALLASCH, G., VOLGER, E. and KLOSE, H.J.:
 Microrheology and Protein Chemistry of Pathological Red Cell Aggregation (Blood sludge) studied in vitro
 Biorheology 10, 213 (1973)

51. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., v. GOSEN, J., HEINICH, L., KLOSE, H.J., VOLGER, E.:
 A Counter-Rotating "Rheoscope Chamber" for the Study of the Microrheology of Blood Cell Aggregation by Microscopic Observation and Microphotometry.
 Microvasc. Res. 6, 366-376 (1973)

52. SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
 Einführung in die Hämorheologie: Fließeigenschaften, Fließbedingungen und Methodik.
 Phlebol. und Proktol. 2, 205-226 (1973)

53. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., HEINICH, L.:
 A Simple Device Allowing Blood Viscometry at Low Rates of Shear with a Wells-Brookfield-Viscometer
 Res. exp. Med. 161, 49-57 (1973)

54. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., KLINE, K.A., HEINICH, L., VOLGER, E. FISCHER, T.:
 Microrheology and Light Transmission of Blood III. The Velocity of Red Cell Aggregate Formation.
 Pflügers Arch. 354, 299-317 (1975)

55. SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
 Erythrocyte Rheology and the Optimization of Mass Transport in the Microcirculation
 Blood Cells 1, 285 (1975)

56. SPIELMANN, W., SEIDL, S.:
Einführung in die Immunhämatologie und Transfusionskunde
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1972)
57. SUTERA, S., MEHRJARD, M., and MOHANDAS, N.
Deformation of Erythrocytes under Shear
Blood cells 1, 369 (1975)
58. THOMSEN, O. and KETTEL, K.:
Die Stärke der menschlichen Iso-agglutinine und der
entsprechenden Blutkörperchenrezeptoren in verschiedenen
Lebensaltern.
Z. Immun.-Forsch. 63, 67 (1929)
59. THORSEN, G. and HINT, H.:
Aggregation, sedimentation and intravascular sludging
of erythrocytes
Acta chir. Scand., Suppl. 154, 1-50 (1950)
60. TOVEY, A.D.:
The incidence, distribution and life history of the anti-A
and anti-B haemolysins in the general population
Vox Sang. 3, 363 (1958)
61. UHLENBRUCK, G.:
Immunbiologie, Eine Einführung Goldmann, München (1971)
62. VOLGER, E., SCHMID-SCHÖNBEIN, H., and KLOSE, H.J.:
Rheological Studies on the Kinetics of Artificial Red Cell
Aggregation Induced by Dextran
Bibl. Anat. 11, 83 (Karger, Basel 1973)
63. VOLGER, E., SCHMID-SCHÖNBEIN, H., GOSEN, J.v., KLOSE, H.J.
and KLINE, K.A.:
Microrheology and Light Transmission of Blood IV. The Kinetics
of Artificial Red Cell Aggregation Induced by Dextran
Pfl. Arch. 354, 319-337 (1975)

64. WELLS, R.E. jr., DENTON, R. and MERRILL, E.W.:
Measurement of viscosity of biologic fluids by cone plate
viscometer
J. Lab. Clin. Med. 57, 646 (1961)

Lebenslauf

Ich, Conrad Pfafferott, wurde am 25.2.1950 als zweites Kind der Eheleute Heinrich Pfafferott und Regina Pfafferott, geb. Schelte, in Berlin geboren.

Im April 1956 trat ich in die 3. Grundschule in Berlin-Reinickendorf ein. 1961 übersiedelten wir nach Ingolstadt. Dort besuchte ich ab September 1961 den math.-nat. Zweig des Christoph-Scheiner-Gymnasiums.

Am 20. Juni 1970 legte ich die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1970/71 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Im Sommersemester 1971 bestand ich die naturwiss. Vorprüfung, im Wintersemester 1972/73 die ärztliche Vorprüfung. Vom Sommersemester 1973 mit Sommersemester 1974 war ich als Hilfsassistent im histologischen Kurs bei Herrn Prof. Wetzstein tätig. Am 14.8.1975 heiratete ich meine Frau Astrid, geb. Maier.

Im Wintersemester 1976 legte ich die ärztliche Prüfung ab. Von September bis Ende Dezember 1976 arbeitete ich am Physiologischen Institut der Rhein.-Westf.-Techn. Hochschule Aachen bei Herrn Prof. Dr. H. Schmid-Schönbein.

Seit 1.2.1977 bin ich als Medizinalassistent am Städt. Krankenhaus Ingolstadt tätig.

